

**Aus der Chirurgischen Klinik
der Johannes-Gutenberg Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. med. F. Kümmerle)**

**Untersuchungen zur Resorption und Verteilung
von DHPN beim Syrischen Goldhamster**

**Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz**

dem Fachbereich Medizin

vorgelegt von

**ANDREAS OPPERMANN
aus Hildesheim**

1983

Mainz 1981

Aus der Chirurgischen Klinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. med. F. Kümmerle)

UNTERSUCHUNGEN ZUR RESORPTION UND VERTEILUNG
VON DHPN BEIM SYRISCHEN GOLDHAMSTER

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz dem

Fachbereich Medizin

vorgelegt von

Andreas OPPERMAN
aus Hildesheim

Mainz 1981



Dekan:

Prof. Dr. Dr. W. Ketterl

1. Gutachter:

Priv.-Dozent Dr. med. K. Rückert

2. Gutachter:

Priv.-Dozent Dr. M. Stahlschmidt

Tag der mündlichen Prüfung:

23. Februar 1983

<u>INHALTSVERZEICHNIS</u>	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL UND METHODIK	6
2.1. Methodik bei den Langzeitversuchen	18
2.2. Aufarbeitung der Proben	18
2.3. Statistik	19
3. ERGEBNISSE	19
4. DISKUSSION	33
4.1. Nitrosamine als Karzinogene	33
4.2. Biochemische Grundlagen	33
4.3. Chemie der organischen N-Nitroso- Verbindungen	35
4.4. Nitrosamine in der menschlichen Umwelt	37
4.5. Nitrosamine im Tierversuch	38
4.6. Nitrosamine im Vergleich ihrer karzinogenen Potenz	41
4.7. Metabolismus der Nitrosamine	44
4.8. Organotropie der Nitrosamine	46
4.9. DHPN, ein gut untersuchtes und hoch spezifisches Nitrosamin	47
4.10. Gallereflux als Ursache der häufigen Pankreaskopfkarzinome	50
4.11. Eigene Ergebnisse, experimentelle Probleme, offene Fragen	62
5. ZUSAMMENFASSUNG	
LITERATURVERZEICHNIS	

1. EINLEITUNG

Über Ätiologie und Pathogenese des Pankreaskarzinoms beim Menschen ist auch heute noch wenig bekannt, und selbst mit modernster Diagnostik konnten bisher keine grundsätzlich neuen Erkenntnisse über diese Krebsart gewonnen werden. Noch Anfang der sechziger Jahre beschränkte sich die Diagnostik des Bauchspeicheldrüsenkrebses auf die indirekten morphologischen Verfahren MDP, intravenöse Cholangiographie, Kolon-Kontrasteinlauf, Übersichts-Aortographie oder das Retropneumoperitoneum. Zusätzlich wurden Ende der sechziger Jahre erstmals die hypotone Duodenographie, die Gastro-Duodenoskopie, die selektive Angiographie, die Szintigraphie und die percutane transhepatische Gallengangspunktion beschrieben. Erst in den siebziger Jahren aber eröffneten die neuen Techniken Möglichkeiten zu indirekten morphologischen Untersuchungen, wie zum Beispiel die Sonographie oder die Computer-Tomographie; außerdem wurde als direkte Untersuchung die endoskopische retrograde Choledochopankreatikographie (ERCP) entwickelt. Daran geknüpft waren große Hoffnungen, das Pankreaskarzinom in einem früheren Stadium als bisher zu erkennen. Darüberhinaus konnten immunologische Verfahren in die Diagnostik aufgenommen werden, so zum Beispiel die Bestimmung des carcinogenen embryonalen Antigens (CEA) und des sogenannten pankreasspezifischen onkofetalen Antigens (OFP) als tumorassoziierte Antigene oder Tumormarker (6,18,28,22).

Trotz dieser Expansion der diagnostischen Möglichkeiten aber blieb die Diagnose des Pankreaskarzinoms vor allem in seiner frühen Phase nahezu unverändert. Der Zeitraum vom Beginn der Beschwerden bis zur endgültigen Sicherung

der Diagnose beträgt nach wie vor 4 - 6 Monate. Eine kurative chirurgische Therapie ist nur bei ca. 20 % der Fälle möglich. Die Überlebensquote hinsichtlich einer 5-Jahresheilung liegt bei den operierten Patienten noch immer unter 10 %. Die Gründe dafür liegen weiterhin in der unzureichenden Spezifität der diagnostischen Methoden. So erfassen sowohl die Oberbauch-Sonographie, als auch die Computer-Tomographie, die ERCP, die Angiographie und die Szintigraphie einen Pankreastumor erst ab einer Größe von mindestens 1 - 2 cm Durchmesser, - für eine Besserung der Prognose eine immer noch zu große Ausdehnung. Außerdem konnten bis heute noch keine typischen Frühsymptome herauskristallisiert werden, nach wie vor sind Anamnese und Klinik des Pankreaskarzinoms zu unspezifisch. Es ist daher äußerst wichtig, die Tumoren in einem Stadium zu erfassen, in dem sie kleiner als 1 cm im Durchmesser sind, eine Forderung, die heute nur vereinzelt und meist per Zufall erfüllt wird und die für einen sicheren Therapieerfolg unerlässlich ist. Außerdem sollten zytologische und immunologische Untersuchungen in Verdachtsfällen frühzeitig zum Einsatz kommen (14,15,27,50,29,56). Da es, wie schon erwähnt, keine typischen Frühsymptome gibt, stellte sich die Frage, wann überhaupt von einem Verdachtsfall gesprochen werden muß. In verschiedenen Arbeiten (3,8,24,16,17,30,60,61) wurden zu dieser Fragestellung Untersuchungen durchgeführt, in denen es darum ging, möglichst viele Faktoren zu sammeln, die in enger Korrelation mit dem Pankreaskarzinom stehen. Neben vielen anderen Kriterien, die beispielsweise eine besondere Alters- und Geschlechtsverteilung, rassische Unterschiede, Koinzidenz mit verschiedenen "Vorerkrankungen" oder demographische Besonderheiten betrafen, kristallisierte sich dabei heraus, daß die menschliche Umwelt mit ihren Ernährungsgewohnheiten

und Giftbelastungen eine entscheidende Rolle bei der Karzinogenese des Bauchspeicheldrüsenkrebses spielt. So wurden zum Beispiel bei Zigarettenrauchern deutlich häufiger Neoplasmen am Pankreas gefunden, ebenso bei Personen, die extrem viel Fleisch und Fett und wenig Gemüse aßen; auch Kaffeekonsum zeigte diesbezüglich signifikante Korrelationen (6). Auch exponierte berufliche Umweltbelastungen - wie zum Beispiel die Beschäftigung in metallverarbeitenden Betrieben oder bei Arbeitern, die mit Naphtalinen und Benzidinen in Berührung kommen - führten zu einer erhöhten Pankreaskarzinominzidenz. Diese Erkenntnisse waren auslösend für Untersuchungen von Chemikalien und Umweltgiften und deren kanzerogenen Potenz bezüglich der Bauchspeicheldrüse, wobei man zu ähnlichen - allerdings nicht so engen - Korrelationen kam, wie bei der Koinzidenz zwischen Zigarettenkonsum und Lungenkrebs.

Aber auch diese Ergebnisse waren unbefriedigend hinsichtlich besserer Früherkennungsmöglichkeiten - die "Risikogruppen" waren für eine suffiziente Vorsorgeuntersuchung zu groß. So schien eine noch gründlichere Forschung nach pankreasspezifischen Noxen am ehesten weiterzuführen.

Seit 1974 wurde dann ein zusätzlicher Weg eingeschlagen, dem in jeder Hinsicht so schwer zugänglichen Pankreaskarzinom näher zu kommen. Es wurden nicht nur Verbindungen aus der Umwelt des Menschen gesucht, welche sicher krebs-erzeugend auf das menschliche Pankreas wirkten, sondern es wurde versucht, Karzinogene synthetisch herzustellen, mit der Maßgabe einer möglichst sicheren Spezifität und

Kanzerogenität auf die Bauchspeicheldrüse von ausgewählten Versuchstieren.

Mit der Gruppe der Nitrosamine wurde bald ein Stoff gefunden, der diesen Voraussetzungen weitgehend entsprach. 1974 beschrieben POUR et al. (37) zum ersten Mal ein Experiment, in dem sie bei syrischen Goldhamstern Pankreasneoplasmen induzierten. Diese Tiere wurden vor allem deshalb für derartige Untersuchungen eingesetzt, weil ihre Bauchspeicheldrüse in entscheidenden Gegebenheiten denen des Menschen entsprach. Als Karzinogen verwandte POUR schon damals dasjenige Nitrosamin (DHPN), welches auch heute noch als die Verbindung mit der höchsten karzinogenen Potenz bezüglich des Pankreas des Hamsters gilt. Mit der Kombination syrischer Goldhamster - Nitrosamine waren damit erstmals die bis dahin bestehenden grundlegenden Probleme bei der experimentellen Erzeugung von Pankreasneoplasmen bewältigt. Die Schwierigkeiten bestanden bis zu diesem Zeitpunkt darin, überhaupt ein geeignetes Karzinogen zu finden, die Organspezifität zu steigern, die zu langen Wartezeiten abzukürzen, die bei der Induktion der Tumore auftraten, die "Erfolgsquote" zu erhöhen oder auch nur ein geeignetes Tiermodell zu entwickeln.

Die ersten Ergebnisse waren sehr vielversprechend, denn die Versuchstiere entwickelten in nahezu 100 % Pankreasneoplasmen und darüberhinaus entsprachen diese sowohl morphologisch als auch histologisch denen des Menschen. Auch die bevorzugten Metastasierungswege und andere typische Begleiterscheinungen, wie zum Beispiel Gewichtsverlust, lokale Fettgewebsnekrosen, tumorbegleitender Aszites oder Gefäßthrombosen, waren mit den Verhältnissen beim Menschen vergleichbar. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß

damit ein Modell entwickelt worden war, anhand dessen sich weitere Untersuchungen zur Ätiologie und Pathogenese des Pankreaskarzinoms durchführen ließen. Untersuchungen, die deshalb so wichtig geworden waren, weil die zur Verfügung stehenden diagnostischen Hilfsmittel ihre Grenzen erreicht zu haben schienen, eine Frühdiagnose trotzdem immer noch dem Zufall überlassen blieb und man vor allem über die Ursachen noch viel zu wenig Informationen besaß.

Ganz besonderes Augenmerk verdiente in diesem Zusammenhang die immer wieder zu beobachtende deutliche Häufung der Tumoren im Kopfbereich der Drüse. Von einer Klärung dieses Phänomens erhoffte man sich wichtige Aufschlüsse über die speziellen Entstehungsmechanismen des Pankreaskarzinoms. Mehrere Autoren stellten dazu in ihren Veröffentlichungen erste Überlegungen an (1,31,39,40,51), und die Interpretationen konzentrierten sich weitgehend auf zwei mögliche Ursachen für diese Beobachtungen: auf der einen Seite nahm man an, daß die karzinogenen Verbindungen aus dem Blut aufgenommen und in die Pankreasgänge sezerniert würden, mit steigender Konzentration in Richtung auf den Pankreaskopf. Andererseits wurde ein Reflux von karzinogenhaltiger Galle- und Duodenalflüssigkeit in das Pankreasgangsystem diskutiert - die dafür voraussetzende gemeinsame kurze Wegstrecke von Ductus choledochus und Ductus wirsungianus war sowohl beim Menschen als auch beim syrischen Goldhamster vorhanden. Da die eine Theorie die andere nicht unbedingt ausschließen mußte, war es ferner möglich, daß sich beide Mechanismen ergänzten.

Während vor allem POUR et al. (1973) die Gallerefluxtheorie ablehnten, stützten besonders die Arbeit von RÜCKERT et al. (20,51,52,53) die Ansicht, daß die Galle als Träger karzinogener Substanzen eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Pankreaskarzinoms spielt.

Mit der vorliegenden Arbeit soll ein weiterer Beitrag zur Klärung der Frage erbracht werden, inwieweit der Gallenflüssigkeit - unter besonderer Berücksichtigung eines möglichen Gallerefluxes - eine mitbestimmende Rolle bei der Entstehung gehäuft auftretender Pankreaskopfkarzinome zukommt. Dazu wurden die Resorption und die Verteilung des Karzinogens DHPN in den Körperflüssigkeiten des syrischen Goldhamsters sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht untersucht, womit erstmals definitive Mengenangaben angegeben werden konnten und vergleichende Betrachtungen zwischen Blut und Galle stattfinden konnten.

2. MATERIAL UND METHODIK

Bei den Versuchstieren handelte es sich um weibliche syrische Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) aus der Zucht der Tierversuchsanstalt der Firma HOECHST in Kastengrund. Die Tiere hatten ein Ausgangsgewicht von 200 gr. ($\pm 10\%$). Sie wurden unter standardisierten Bedingungen in Plastikkäfigen gehalten und mit Altrominpellets und Wasser ad libitum ernährt.

Eine kurze Beschreibung der topographisch-anatomischen Verhältnisse der Bauchspeicheldrüse des syrischen Goldhamsters macht deutlich, warum gerade dieses Tier für Untersuchungen an diesem Organ - besonders hinsichtlich der Vergleichbarkeit mit dem Menschen - gut geeignet ist. Zwar wären bezüglich der Morphologie und der Topographie der Bauchspeicheldrüse neben dem Goldhamster auch Ratten und Mäuse zu verwenden weil auch sie den für diese Untersuchungen so wichtigen gemeinsamen Ausführungsgang des Ductus choledochus und des Ductus wirsungianus besitzen (58). Aus unbekannten Gründen können jedoch weder mit Ratten noch mit Mäusen vergleichbare Ergebnisse erzielt werden, möglicherweise zusammenhängend mit unterschiedlichen Stoffwechselleistungen. Andererseits zeigen dem syrischen Goldhamster sehr artverwandte Tiere - zum Beispiel der europäische Goldhamster oder der chinesische Zwerghamster - recht schwerwiegende Unterschiede. So hält beispielsweise der europäische Hamster im Gegensatz zum Syrischen einen Winterschlaf, oder der chinesische Zwerghamster besitzt - ebenso im Gegensatz zum syrischen Goldhamster - keine Gallenblase, beides Kriterien, die diese Tiere für bestimmte Stoffwechseluntersuchungen nicht in Frage kommen lassen.

Die Bauchspeicheldrüse des syrischen Goldhamsters liegt als gelapptes Organ retroventrikulär im Bauchraum. Die drei Pankreaslappen vereinigen sich im rechten Oberbauch zum Pankreaskopf, der in die Duodenalschlinge eingebettet liegt. Der ventrale oder Magenlappen, der 25 % des gesamten Organs ausmacht, legt sich der großen Krümmung des

Drüsenmagens an und wird als einziger bei der Eröffnung der Bauchhöhle gesehen. Das dorsale oder Milzlappensegment, das 40 % des Gesamtorgans ausmacht, damit also der größte Teil ist, wird vom Magen völlig überdeckt. Der Duodenallappen ist das kürzeste und mit 12 % Anteil auch das kleinste Segment. Die fehlenden 23 % beinhaltet der Zusammenschluß der drei Lappen, entsprechend etwa dem Pankreaskopf beim Menschen (Abb. 1).

Der Ductus choledochus vereinigt sich mit dem Ductus wirsungianus kurz vor der gemeinsamen Mündung ins Duodenum. Dabei fließen in der Regel zwei Hauptausführungsgänge des Pankreas mit dem Ductus choledochus zusammen. Diese beiden Gänge, die den Ductus wirsungianus bilden, kommen einerseits aus dem Duodenallappen, andererseits vereint aus Magen- und Milzlappen. Zusätzlich erreichen viele einzelne kleine Gänge direkt den großen gemeinsamen Gang, bevor er ins Duodenum mündet.

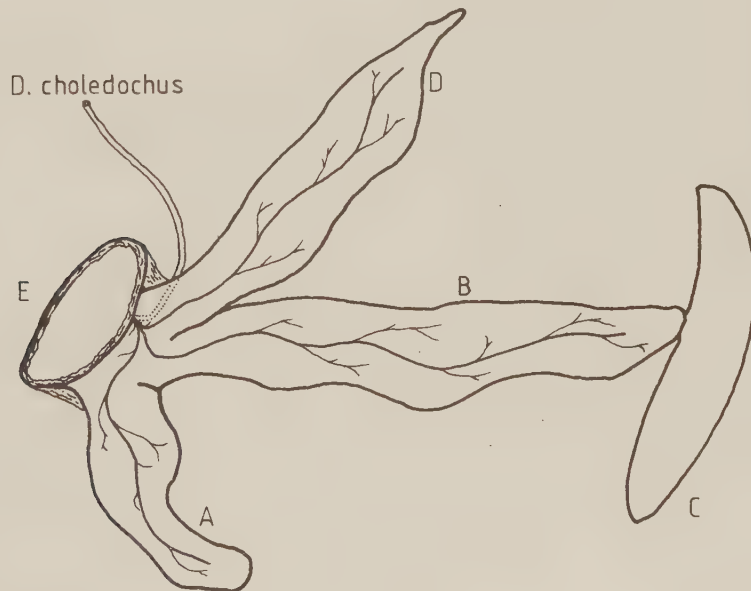


Abb.1: schematische Vereinfachung der topographischen Verhältnisse des Hamsterpankreas
A: Duodenallappen B: Milzlappen C: Milz
D: Magenlappen E: Duodenum

Die Blutversorgung erfolgt aus drei Arterien, alle ausgehend von der Arteria coeliaca, das venöse Blut fließt in die Vena porta (55).

Als Karzinogen verwandten wir 2,2'-dihydroxy-di-n-propyl-nitrosamin (DHPN), ein speziell für derartige Zwecke entwickeltes synthetisches Nitrosamin, das identisch ist mit dem schon 1974 in der Literatur erwähnten Diisopropanol-nitrosamin (DIPN) und das in der modernen Literatur auch als BHP bekannt ist. Zur Verfügung gestellt und synthetisiert wurde es von Frau Dr. B. BERTRAM vom Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg (Institut für Toxikologie und Chemotherapie).

Um DHPN, das sehr viskös ist, in eine applizierbare Form zu bringen, wurde es mit Olivenöl im Verhältnis 1 : 25 gemischt. Als Narkosemittel diente Urethan. Es handelt sich dabei um ein Anaesthetikum, das besonders gut für prolongierte Narkosen geeignet ist.

Für die Narkose der syrischen Goldhamster wurde Urethan in einer Konzentration von 0,25 gr/ml Wasser / 100 gr. Körpergewicht intraperitoneal appliziert. Hier liegt eine Schwierigkeit in der Handhabung dieses Narkosemittels, denn der Bereich zwischen anaesthetischer und letaler Dosis ist nur sehr gering. Die Urethanlösung sollte außerdem jeden Tag neu angesetzt werden, da sie nur für maximal einige Tage stabil und damit wirksam bleibt. Die Wirkung der Narkose tritt nach 10 - 15 Minuten ein und kann bis zu 10 Stunden andauern. Zeichen eines Nachlassens der Wirkung sind Backenbartbewegungen und beschleunigte Atem-

exkursionen des Hamsters. Trotz der Nachteile des Urethans (extreme Toxizität, daher gewöhnlich Tod des Tieres nach spätestens 48 Stunden, extrem tiefe Narkose mit resultierender Entgleisung der Körpertemperatur - die Tiere müssen extern erwärmt werden, wobei eine OP-Lampe genügt -) wurde es dem Äther vorgezogen, da dessen Nachteile, die vor allem in der schlechten Steuerbarkeit und der mangelhaften Tiefe der Narkose zu sehen sind, sich im vorliegenden Experiment noch nachteiliger auswirken würden.

Den Tieren wurde das mit Olivenöl im Verhältnis von 1 : 25 gemischte Karzinogen in einer Menge von je 0,6 ml (= 24 mg) appliziert, entsprechend 120 mg/kg Körpergewicht. Die Applikation erfolgte dabei entsprechend der Aufteilung in Gruppen entweder subcutan, intraperitoneal oder intragastral über eine Magensonde (Abbildungen 2 - 4).



Abb. 2: Applikation des Karzinogens subcutan an typischer Stelle



Abb. 3: Applikation des Karzinogens intraperitoneal



Abb. 4: Applikation des Karzinogens intragastral (über einen entsprechend gekürzten Venenkatheter)

Bei der Vorbereitung zur Applikation des Karzinogens ist besonders darauf zu achten, daß vor dem Entnehmen des DHPN-Olivenöl-Gemisches jeweils für eine gründliche Durchmischung gesorgt wird, da sich sonst erhebliche Konzentrationsunterschiede des DHPN in den einzelnen Portionen ergeben. Um zu versuchen, derartige Fehler weitgehend auszuschließen, haben wir für jede einzelne Gruppe je eine Referenzprobe des Gemisches genommen, um die tatsächlich applizierte Menge DHPN pro Tier genauer erfassen zu können. Jedem Tier wurde nach definierten Zeitabständen zuerst Gallenflüssigkeit und anschließend Blut entnommen, um die Konzentration des DHPN darin zu bestimmen.

Für eine Gruppe von jeweils 5 Hamstern wurden 3 ml ($5 \times 0,6$ ml) des DHPN-Olivenöl-Gemisches in eine Spritze aufgezogen, zusätzlich $1 \times 0,6$ ml für die Referenzprobe. Sodann wurde allen zu einer Versuchsgruppe gehörenden Tieren nach einer Äther-Kurzsnarkose das Karzinogen appliziert. Die Narkotisierung der Tiere zur Entnahme von Gallenflüssigkeit und Blut erfolgte dann, je nach Aufgabenstellung, unmittelbar anschließend bis zu mehreren Wochen nach Applikation des Karzinogens.

In einer Vorversuchsserie, in der neben den Kurzzeitversuchen auch längerfristige Untersuchungen zur Verteilung des Karzinogens vorgenommen wurden, bekamen 75 Tiere das DHPN appliziert. Dabei konnten die Tiere bis zur Narkotisierung Nahrung ad libitum zu sich nehmen. Die Gruppeneinteilung dieser Vorversuchsserie, orientiert nach Applikationsform und Zeitintervall der Blut- und Galleentnahme, ist der Tabelle 1 zu entnehmen.

Gruppe	Applikationsform	Gallenblasenpunktion nach	Blutentnahme nach
1	s.c.	10'	70'
2	i.g.	10'	70'
3	i.p.	2Std.	3Std.
4	s.c.	23Std.	24Std.
5	i.g.	23Std.	24Std.
6	i.p.	23Std.	24Std.
7	s.c.	71Std.	72Std.
8	i.g.	71Std.	72Std.
9	i.p.	71Std.	72Std.
10	s.c. 1×wöchentlich	3Mon.	3Mon.
11	i.g. 1×wöchentlich	3Mon.	3Mon.
12	s.c.	·/·	5;10;15;20;30;40;60;80;90;120'
13	i.g.	·/·	——— dto. ———

Tabelle 1: Behandlungsschema der Gruppen 1 - 11 (je 5 Tiere) und 12 - 13 (je 10 Tiere), orientiert nach Applikationsform und Zeitintervall bis zur Probenentnahme. s.c.=subcutan, i.g.=intragastral, i.p.=intraperitoneal.

Gruppe	Applikationsform	Gallenblasenpunktion nach	Blutentnahme nach
14	i.g.	90'	150'
15	i.g.	120'	180'
16	i.p.	30'	90'
17	i.p.	90'	150'
18	i.p.	120'	180'
19	s.c.	30'	90'
20	s.c.	90'	150'
21	s.c.	120'	180'

Tabelle 2: Behandlungsschema der Gruppen 14 - 21 (je 5 Tiere), orientiert nach Applikationsform und Zeitintervall bis zur Probenentnahme.

Anschließend an diese Vorversuchsserie wurden weitere 40 Tiere in den Versuch aufgenommen und nach dem Schema der Tabelle 2 behandelt.

Die entnommenen Blut- und Galleproben sowie die Referenzproben wurden zum Versand in Transportküvetten eingebracht, diese wurden dann in mit Trockeneis gefüllte Styroporbehälter verpackt und ins Deutsche Krebsforschungszentrum nach Heidelberg geschickt.

Die um jeweils 60 Minuten zeitversetzte spätere Entnahme der Blutproben gegenüber der Gallenblasenpunktion erklärt sich aus der Tatsache, daß zur Gewinnung von nur 0,5 ml Gallenflüssigkeit wenigstens 60 Minuten Zeit gebraucht werden. Dieser Vorgang muß jedoch abgeschlossen sein, ehe mit der Entnahme der Blutproben begonnen werden kann; da die Tiere diese Blutentnahme nicht lange tolerieren. Der Grund dafür ist nicht nur die Menge (je 1 ml Blut aus der Pfortader und aus der Vena cava inferior), sondern vor allem das Leck, das nach der Punktion des Gefäßes zurückbleibt.

Eine detaillierte Darstellung des gesamten Verlaufs des experimentellen Teils nach Karzinogenapplikation und Narkose gibt die folgende Beschreibung:

1. Fixierung des narkotisierten Tieres auf dem Rücken.
2. Großzügige, schichtweise Eröffnung der Bauchhöhle, cranio-caudal vom Xiphoid bis in Höhe der Symphyse und nach lateral beidseitig subcostal.

3. Darstellung und Ligierung des Ductus choledochus (Abb. 5).
4. Nach Ablauf von 10 Minuten wird die Gallenblase, die sich nach der Ligatur schnell füllt, punktiert. Dies geschieht mittels einer sehr feinen Kanüle (Durchmesser 0,4 mm), an die ein 5 cm langes, dünnes Schlauchstück angeschweißt ist. In das abgeschnittene offene Schlauchende befestigten wir über eine 1er Kanüle eine 2ml-Spritze zum Sammeln der Gallenflüssigkeit. Fixiert wird diese ganze Vorrichtung, indem die Kanüle zur Gallenblasenpunktion durch den rechten Rippenbogen des Hamsters gestochen wird, ohne dabei Lebergewebe zu verletzen (Abb. 6).
5. Durch mehrmaliges Aspirieren (ca. alle 15 Minuten einmal) wird solange Gallenblüssigkeit gesammelt, bis mindestens 0,5 ml gefördert sind. Dieser Arbeitsschritt dauert in der Regel 60 Minuten.
6. Anschließend Präparation der Vena cava inferior an der Stelle des Zusammenflusses der Vv. iliaecae sowie Präparation der Vena porta. Es folgt die Entnahme von je einem Milliliter Blut, und zwar zuerst aus der Pfortader, erst danach aus der Vena cava. Dazu wird die Spritze der Entnahmekanüle rechtwinklig abgebogen um damit eine bessere Führung der Kanüle zu erreichen (Abb. 7 und 8).
7. Einbringen der heparinisierten Blutproben und der Gallenproben in Transportküvetten.
8. Die Transportküvetten werden in Styroporbehälter, in denen sich Trockeneis befindet, verpackt und per Post nach Heidelberg dem Deutschen Krebsforschungszentrum zur Analyse geschickt.



Abb. 5: Darstellung des Ductus choledochus

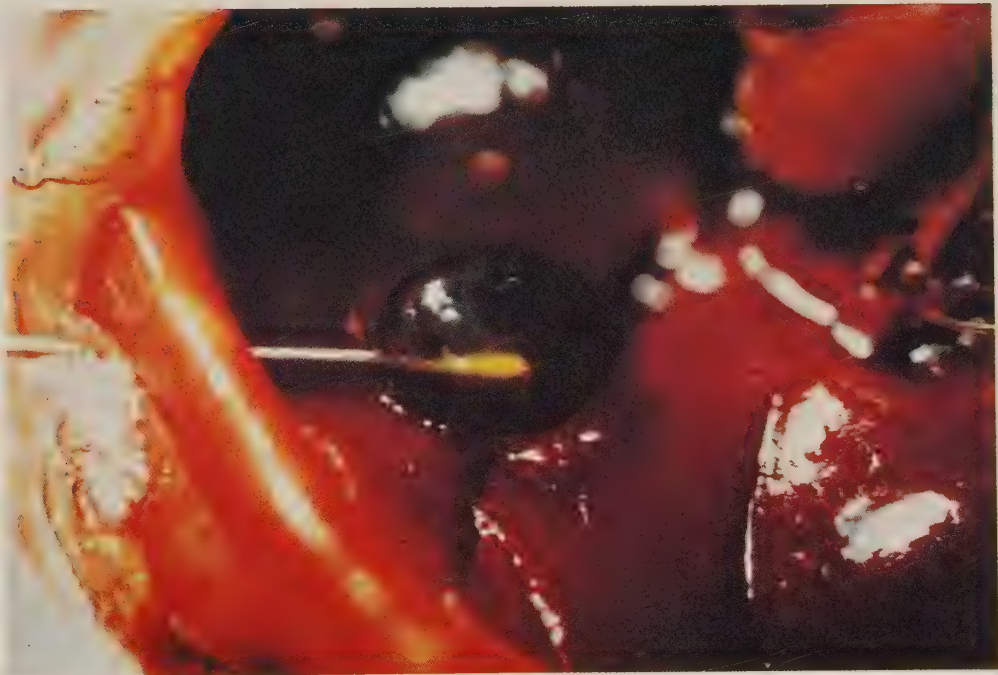


Abb. 6: Punktion der Gallenblase



Abb. 7: Punktion der V. cava inferior (mit abgewinkelter Kanülenspitze)



Abb. 8: Punktion der V. porta (mit abgewinkelter Kanülenspitze)

2.1. Methodik bei den Langzeitversuchen

Bei den Versuchstieren der Gruppen 10 und 11, die das Karzinogen einmal wöchentlich in einer Dosierung von 120 mg/kg Kg. subcutan appliziert bekamen, wurde nach Ablauf von drei Monaten ebenso verfahren, wie mit allen anderen Tieren. Während der drei Monate wurden regelmäßige Gewichtskontrollen durchgeführt. Diese Gewichtskontrollen fanden in der Äther-Kurznarkose statt, die zur Applikation der wöchentlichen DHPN-Dosis notwendig war. Tiere aus den Kurzzeitversuchen wurden nur einmal - ebenfalls während der Äther-Kurznarkose - gewogen, um aus dem Gewicht die notwendige Urethanmenge zu ermitteln und bei größeren Abweichungen vom Durchschnittsgewicht auch die Karzinogenmenge anzugleichen.

2.2. Aufarbeitung der Proben

Im Deutschen Krebsforschungszentrum geschieht die Aufarbeitung der eingesandten Proben über eine Miniextrelutsäule (230 mm), wobei man die Proben 30 Minuten einziehen läßt und anschließend mit 5 ml Dichlormethan (CH_2Cl_2) extrahiert. Dieser Extrakt wird unter Stickstoff auf 1 ml eingengt und zur eigentlichen Analyse in Ampullenfläschchen abgefüllt.

Die Wiederfindungsrate der so behandelten Proben (recovery) lag bei der Vorversuchsserie bei 40 %, bei den Proben der weiteren 40 Tiere bei 60 %. Die gaschromatographischen Bedingungen waren folgende: Gaschromatograph:

Pye Unicam series 104, Säule: 90 cm Tenax, Ofen: 220°C, Flow: 40 ml/min, Inj.: 280°C, Det.: 300°C und Ret.t: 3 Minuten und 5 Sekunden.

2.3. Statistik

Auf statistisch abgesicherte Aussagen und Berechnungen wurde nach Absprache mit dem Institut für medizinische Statistik und Dokumentation verzichtet, da einige Voraussetzungen bezüglich der Signifikanz und der Reliabilität nicht erfüllt werden konnten.

Die Ergebnisse können daher nur orientierende Daten vermitteln und Trends aufzeigen. Weitere Untersuchungen sind notwendig.

3. ERGEBNISSE

Ziel der Vorversuchsserie mit 75 Tieren war es, eine Übersicht darüber zu gewinnen, in welchen Zeitabständen nach der Applikation das Karzinogen in den Körperflüssigkeiten Galle und Blut nachzuweisen war.

Bei den Tieren der Gruppe 10 und 11, die drei Monate lang einmal wöchentlich das DHPN in einer Dosierung von 120 mg/kg Kg. subcutan bzw. per Magensonde appliziert bekamen, liessen sich nach Ablauf dieser Zeit weder in der Galle noch im Blut der V. cava und der Pfortader meßbare Konzentrationen des Karzinogens nachweisen. Dabei muß darauf hingew-

wiesen werden, daß die Entnahme der Proben eine Woche nach der letzten Karzinogenapplikation erfolgte.

Es fiel auf, daß lediglich Tiere der Gruppe 11 (Applikation per Magensonde) makroskopisch sichtbare Veränderungen entwickelt hatten, und zwar hauptsächlich in Leber und Lunge, nur vereinzelt in der Bauchspeicheldrüse. Bei Tieren der Gruppe 10 (Applikation subcutan) konnte in keinem Fall ein makroskopisch sichtbarer Tumor gefunden werden. Entsprechende Unterschiede zwischen diesen beiden Gruppen fanden sich bezüglich der Gewichtsabnahme, die nur bei der Gruppe 11 erkennbar war und im Mittel etwa 50 gr. (= 25 %) betrug. Bei allen zehn Tieren dieser beiden Gruppen fiel bei der Entnahme der Gallenflüssigkeit auf, daß die Galleproduktion deutlich verlangsamt war. Reichten normalerweise ungefähr 60 Minuten zur Förderung der Mindestmenge von 0,5 ml aus, so waren bei diesen Tieren durchschnittlich 80 - 90 Minuten Aspirationszeit notwendig.

Bezogen auf die meßbaren Konzentrationen des DHPN verhielten sich die Ergebnisse bei den Tieren der Gruppen 4 bis 9 nicht anders als die der Gruppen 10 und 11, das heißt, unabhängig von der Applikationsform ließ sich weder nach 24 Stunden noch nach 72 Stunden das Karzinogen im Blut oder in der Galle nachweisen.

Die Zeitintervalle zwischen Applikation des DHPN und Entnahme der Proben mußten daher wesentlich kürzer gewählt werden. Während dies bei den Blutproben ohne weiteres zu realisieren war, ergaben sich bei der Gallegewinnung Probleme bezüglich kürzerer Zeitintervalle daraus, daß erste Ergebnisse frühestens nach 70 - 75 Minuten zu er-

halten waren. Gründe dafür, daß nicht schon nach 10 oder 20 Minuten DHPN-Konzentrationen gemessen werden konnten, liegen vor allem in der Tatsache, daß zur erforderlichen Mindestmenge von 0,5 ml eine Aspirationszeit von wenigstens 60 Minuten benötigt wurde, zuzüglich der 10 - 15 Minuten, die für Narkoseeinleitung, vorbereitende Präparation des Tieres und Punktion der Gallenblase gebraucht wurden. Bei den extrem kurzen Zeitabständen der Gruppen 12 und 13 wurden aus diesen Gründen auch nur Blutproben entnommen.

Den Tieren der Gruppe 1 wurde das Karzinogen subcutan, der Gruppe 2 intragastral und der Gruppe 3 intraperitoneal appliziert und nach Präparation der Gallenblase ca. 60 Minuten lang Gallenflüssigkeit aspiriert. Erste meßbare Konzentrationen liegen denn auch erst für eine Zeit von 80 Minuten nach der DHPN-Applikation vor, und zwar fanden sich nach intragastraler Gabe 163 Mikrogramm DHPN/ml untersuchter Gallenflüssigkeit, nach subcutaner Gabe wurden 173 Mikrogramm/ml gemessen. Diese Zahlenwerte, sowie auch alle folgenden, sind jedoch nur mit aller Vorsicht zu interpretieren, da in dieser Vorversuchsserie die negativen Analysenergebnisse zunächst nicht berücksichtigt wurden.

Erste orientierende Ergebnisse über DHPN-Konzentrationen im Blut erbrachten Proben aus den Gruppen 12 und 13. Dabei fanden sich nach intraperitonealer Applikation des DHPN die ersten meßbaren Konzentrationen im Pfortaderblut, und zwar nach 10 Minuten 40 Mikrogramm DHPN/ml Blut, nach 15 Minuten 31 Mikrogramm/ml und nach 30 Minuten 260 Mikrogramm/ml. Auch im Blut der Vena cava inferior waren bereits nach 15 Minuten mit 16 Mikrogramm DHPN/ml Blut und

nach 30 Minuten mit 88 Mikrogramm/ml die frühesten Werte nach intraperitonealer Applikation festzustellen. Nach oraler Gabe des DHPN dauerte es sowohl im Pfortaderblut als auch im Cavablut 80 Minuten, ehe mit 80 Mikrogramm/ml bzw. 92,5 Mikrogramm/ml erste Konzentrationen beobachtet werden konnten. Am längsten dauerte es erwartungsgemäß nach subcutaner Applikation des Karzinogens. Erst nach 90 Minuten fanden sich im Pfortaderblut 226 Mikrogramm/ml und im Cavablut 258 Mikrogramm/ml.

Bei Blut- bzw. Galleproben, die 24 Stunden oder 72 Stunden nach Applikation des Karzinogens abgenommen wurden (Gruppe 4 bis 9), konnten keine meßbaren Konzentrationen des DHPN nachgewiesen werden.

90 Minuten nach subcutaner Applikation war in allen drei untersuchten Probeflüssigkeiten (Galle, Cavablut und Pfortaderblut) DHPN nachzuweisen und zwar in nicht unerheblichen Mengen, wenn man die 40 %-ige Recovery in Betracht zieht. Die Verteilung ist dabei in Pfortaderblut und Cavablut etwa gleichzusetzen, während in der Galle etwas weniger gefunden wurde.

Wird das DHPN per Magensonde gegeben, so sieht das Bild umgekehrt aus. Nach 80 Minuten wird in Pfortaderblut und Cavablut etwa gleichviel nachgewiesen, in der Galle etwa doppelt soviel.

Nach intraperitonealer Applikation wurde im Cavablut nach 15 Minuten, im Pfortaderblut bereits nach 10 Minuten Kar-

zinogen nachgewiesen, nach 30 Minuten fanden sich im Cavablut die 4-fache und im Pfortaderblut die 6-fache Menge DHPN.

In der Galle fand sich nach intraperitonealer Gabe der höchste Wert des Karzinogens, verglichen mit der subcutanen und der intragastralen Applikation.

Um die in der Vorversuchsserie deutlich gewordenen Mischungsprobleme des DHPN im Olivenöl auszuschalten, wurden im folgenden Versuchsansatz, der noch einmal 40 Tiere umfaßte, besonders sorgfältige Mischungsansätze angefertigt, außerdem wurden zusätzlich zu den 8 Applikationslösungen für die 8 Gruppen zu je 5 Tieren je eine Referenzprobe entnommen, um die tatsächlich applizierte Menge DHPN feststellen zu können. Bei der vergleichenden Untersuchung dieser 8 Referenzlösungen, die nach Durchmischung von Olivenöl und DHPN gleiche Konzentrationswerte haben sollten, wurden die in Tabelle 3 folgenden Werte ermittelt.

Applikationslösung für Gruppe	mg DHPN/ml Olivenöl	tatsächlich applizierte DHPN-Menge [in mg] pro Tier
14	1500	36
15	3900	91
16	6860	165
17	4630	111
18	2880	68
19	1680	40
20	5700	137
21	4950	111

Tabelle 3: DHPN-Konzentrationen in den Referenzproben und die daraus folgenden tatsächlich applizierten Mengen DHPN pro Tier in den Gruppen 14-21.

Dabei zeigten sich erstmals in Zahlenwerten die immer noch erheblichen Unterschiede in der tatsächlich den Tieren applizierten Menge DHPN.

Die 8 Gruppen zu je 5 Tieren wurden nach dem Schema der Tabelle 2 behandelt, wobei aus Gruppe 14 zwei Tiere und aus Gruppe 20 ein Tier während der Urethannarkose ad exitum kamen, so daß nur 37 Tiere für die Proben zur Verfügung standen. Für die folgenden Ergebnistabellen wurde wegen der immer noch erheblichen Konzentrationsunterschiede des DHPN der Gehalt des Karzinogens in $\% \times 10^{-2}$ angegeben, um einen besseren Vergleich zu ermöglichen. Bei der Berechnung des Mittelwertes wurden Werte unter der Nachweisgrenze (u.N.) nicht mitgerechnet. Wenn zwei oder mehr Werte unter der Nachweisgrenze lagen, wurde kein Mittelwert errechnet.

Die Abbildungen 9 - 11 stellen die Inhalte der Tabellen 4 - 6 graphisch dar. Fixpunkte der Kurven sind die Mittelwerte der Tabellen 4 - 6, die zu diesem Zweck umgerechnet wurden in Mikrogramm/ml. Diese Umrechnung ermöglicht ausserdem einen besseren Vergleich mit den Ergebnissen der Vorversuchsserie, die ebenfalls in Mikrogramm/ml angegeben sind. Als Basis für diese Umrechnung dienten die Ergebnisse der Referenzproben, die in Tabelle 3 zu finden sind.

GRUPPE	TIERZAHL	Zeitpunkt der Entnahme von CAVABLUT PFORTADERBLUT		Zeitraum der Entnahme von GALLE
14	3	nach 150'	nach 150'	nach 90' - 150'
		3,4 * u.N. u.N. ≅ 11,1 µg/ml 2,9 u.N. u.N.		alle drei Proben u.N., in Spuren vorhanden
15	5	nach 180'	nach 180'	nach 120' - 180'
		6,9 4,3 6,3 4,0 u.N. 5,3±1,4 ≅ 52,4 µg/ml 9,4 6,1 8,7 4,9 1,3 6,0±3,2		10,4 9,1 1,5 4,5 2,1 5,4±3,9 ≅ 50,1 µg/ml

Tabelle 4

DHPN-Konzentration in Blut und Galle nach intragastraler Applikation bei Gruppe 14 und 15.

u.N.=unter der Nachweisgrenze

* = % × 10⁻² der insgesamt applizierten Menge DHPN pro Tier (siehe Tabelle 3)

Mittelwerte mit Standardabweichungen errechnet, wenn wenigstens 4 Werte vorliegen.
Umrechnung der Mittelwerte in µg/ml (für die folgende graphische Darstellung).

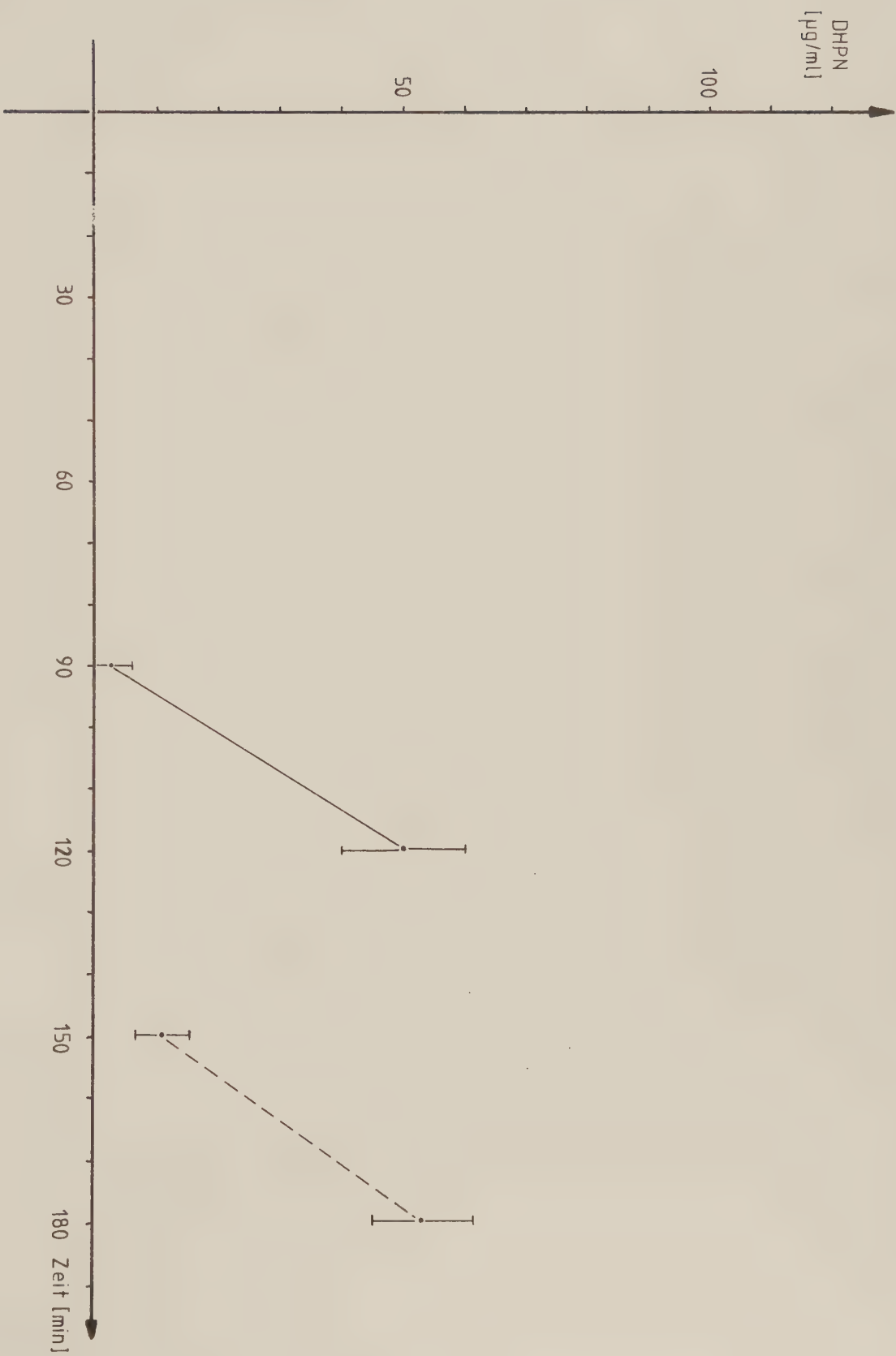


Abb.9: (zu Tabelle 4)
Konzentration DHPN (in $\mu\text{g/ml}$) in Abhängigkeit von der Zeit (in min) nach intragastraler Applikation. Dargestellt sind die Mittelwerte ($n=5$) mit zugehörigen Standardabweichungen. Blut (—), Galle (---).

GRUPPE	TIERZAHL	Zeitpunkt der Entnahme von CAVABLUT	Zeitpunkt der Entnahme von PFORTADERBLUT	Zeitraum der Entnahme von GALLE
16	5	nach 90'	nach 90'	nach 30' - 90'
		0,89 *	0,52	1,40
		0,36	0,34	0,58
		1,28	0,72	0,52
		0,90	0,60	2,20
		u.N.	0,78	2,24
		0,85±0,38	0,6±0,17	1,42±0,87
		≐ 11,9µg/ml		≐ 37,7µg/ml
17	5	nach 150'	nach 150'	nach 90' - 150'
		3,5	4,3	7,1
		2,9	4,6	8,5
		5,0	4,2	7,7
		5,6	5,7	11,9
		3,5	3,7	5,0
		4,1±1,1	4,5±0,74	8,0±2,5
		≐ 48,2µg/ml		≐ 89,1µg/ml
18	5	nach 180'	nach 180'	nach 120' - 180'
		0,7	u.N.	u.N.
		u.N.	1,0	0,9
		1,7	2,1	1,6
		0,7	u.N.	u.N.
		2,1	2,5	0,8
		1,3±0,7		
		≐ 13,8µg/ml		≐ 7µg/ml

Tabelle 5

Bedingungen entsprechen Tabelle 4, hier nach intraperitonealer Applikation des DHPN bei Gruppe 16, 17 und 18.

*= Einheit, siehe Tabelle 4

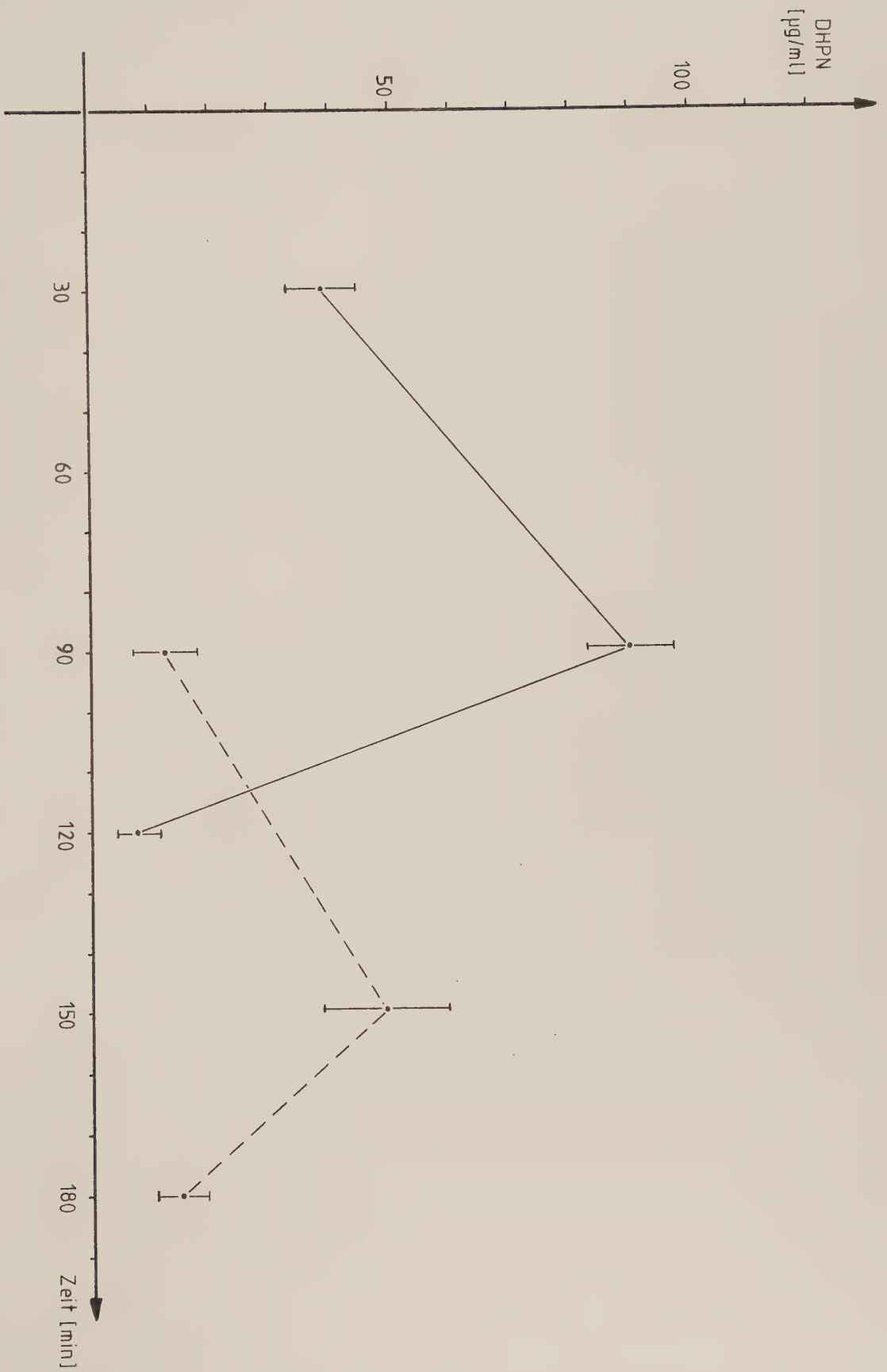


Abb.10: (zu Tabelle5)
Bedingungen wie Abb.9, hier nach intraperitonealer Applikation.

GRUPPE	TIERZAHL	Zeitpunkt der Entnahme von CAVABLUT	Zeitpunkt der Entnahme von PFORTADERBLUT	Zeitraum der Entnahme von GALLE
19	5	nach 90'	nach 90'	nach 30' - 90'
		16,2 * 16,0 17,0 8,9 14,1 14,4 ± 3,2 ≈ 60,4 µg/ml	14,7 13,9 17,1 16,0 16,4 15,6 ± 1,3	28 22 37 u.N. 29 29 ± 6,1 ≈ 116,1 µg/ml
20	4	nach 150'	nach 150'	nach 90' - 150'
		2,3 2,3 3,1 2,3 2,5 ± 0,4 ≈ 34,9 µg/ml	3,5 2,1 2,2 2,6 2,6 ± 0,6	6,0 5,0 6,1 6,3 5,8 ± 0,5 ≈ 80,2 µg/ml
21	5	nach 180'	nach 180'	nach 120' - 180'
		1,5 1,7 3,6 2,4 1,9 2,2 ± 0,8 ≈ 26,3 µg/ml	1,2 1,4 2,5 4,5 1,6 2,2 ± 1,3	4,1 5,3 3,8 6,2 4,0 4,6 ± 1,0 ≈ 54,1 µg/ml

Tabelle 6

Die Bedingungen entsprechen der Tabelle 4; hier nach subcutaner Applikation des DHPN bei Gruppe 19, 20 und 21.

* = Einheit, siehe Tabelle 4.

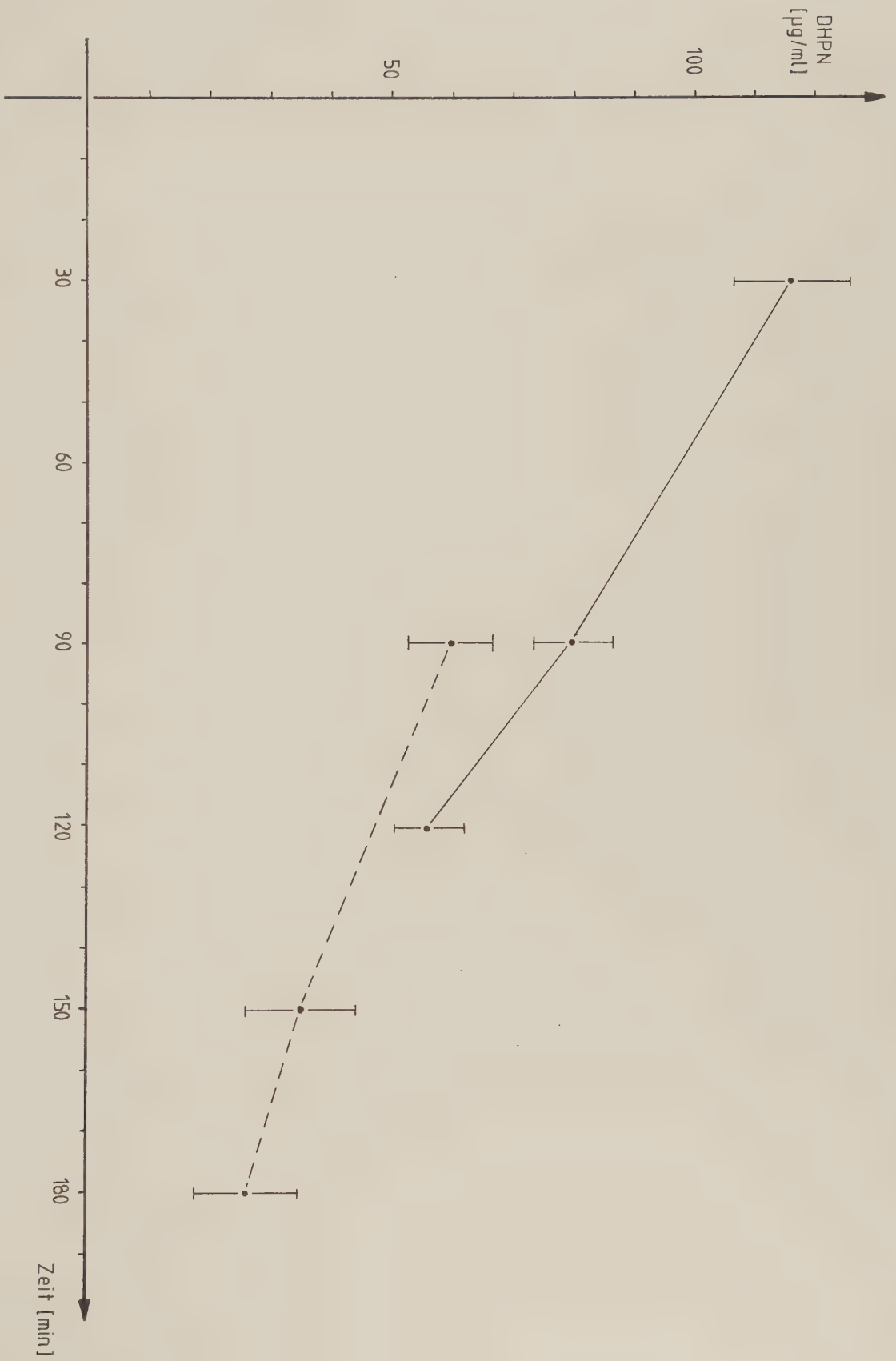


Abb.11: (zu Tabelle 6)
Bedingungen wie Abb.9, hier nach subcutaner Applikation

Obwohl eine für jedes einzelne Versuchstier identische Dosierung des Karzinogens wegen der immer noch erheblichen Konzentrationsunterschiede des DHPN im Olivenöl nicht möglich war, hielten sich die Streubreiten der Ergebnisse von Gruppe 14 - 21, im Gegensatz zu den Ergebnissen von Gruppe 1 - 13, in vertretbaren Grenzen.

Die Gruppen 14 und 15 bekamen das Karzinogen per Magensonde intragastral appliziert. Bei Gruppe 14 fanden sich nach 150 Minuten in der Galle nur Spuren des DHPN, die unter der Nachweisgrenze lagen. Erst nach 180 Minuten können dort - in Gruppe 15 - meßbare Werte nachgewiesen werden, und zwar durchschnittlich 50,1 Mikrogramm/ml Gallenflüssigkeit. Auch im Blut der Tiere aus Gruppe 14 konnte nur bei einem Tier ein meßbarer Wert gefunden werden (alle anderen waren unter der Nachweisgrenze), wobei Pfortader- und Cavablut sowohl in diesem Fall, als auch in allen anderen Gruppen nahezu gleichzusetzende Konzentrationen des Karzinogens enthielten. Es konnte lediglich eine leichte Tendenz zu etwas höheren Werten im Pfortaderblut beobachtet werden, jedoch nicht durchgehend bei allen Versuchstieren. Daher werden die Werte der DHPN-Konzentrationen für Pfortader- und Cavablut nicht extra voneinander unterschieden, sondern die Durchschnittswerte für das Blut allgemein angegeben. Die jeweiligen Einzelwerte können den Tabellen 4 - 6 entnommen werden. So ergibt sich für das Tier aus Gruppe 14 ein Wert von 11,1 Mikrogramm DHPN/ml Blut. Für Gruppe 15 wurde nach 180 Minuten im Blut ein durchschnittlicher Wert von 52,4 Mikrogramm/ml gefunden, etwa die gleiche Menge, wie in den Gallenproben der gleichen Gruppe (50,1 Mikrogramm/ml).

Die Gruppen 16, 17 und 18 bekamen das Karzinogen intra-peritoneal appliziert. Bei Gruppe 16 fand sich in der Galle nach 90 Minuten ein Wert von 37,7 Mikrogramm/ml, im Blut der Tiere der gleichen Gruppe wurden durchschnittlich 11,9 Mikrogramm/ml gefunden. In Gruppe 17, bei der die Proben nach 150 Minuten entnommen wurden, hatte sich der Gallenwert mit 89,1 Mikrogramm/ml gegenüber der Gruppe 16 mehr als verdoppelt und im Blut nahm der Wert mit 48,2 Mikrogramm/ml sogar mehr als den vierfachen Wert an. Deutlich geringere Konzentrationen ergaben sich bei Gruppe 18, bei der nach 180 Minuten Blut und Galle entnommen wurde. In der Galle waren nur drei Proben über der Nachweisgrenze und auch im Blut fanden sich nicht in allen Proben meßbare Karzinogenkonzentrationen. Die Werte in der Galle entsprachen etwa 7 Mikrogramm/ml (kein Mittelwert errechnet), im Blut fanden sich durchschnittlich 13,8 Mikrogramm/ml.

Die Gruppen 19, 20 und 21 bekamen das Karzinogen subcutan appliziert. In diesen Gruppen wurden die höchsten Werte ermittelt. Bei Gruppe 19 fand sich in der Galle nach 90 Minuten ein Wert von durchschnittlich 116,1 Mikrogramm/ml, bei einem Tier dieser Gruppe konnte kein DHPN nachgewiesen werden. Im Blut der Tiere aus Gruppe 19 wurde eine Konzentration von 60,4 Mikrogramm/ml ermittelt. In Gruppe 20, bei der nach 150 Minuten die Proben entnommen wurden, zeigten sich gegenüber Gruppe 19 geringere Konzentrationen des DHPN. In der Galle wurden 80,2 Mikrogramm/ml und im Blut 34,9 Mikrogramm/ml gemessen. Noch geringere DHPN-Mengen enthielten die Proben aus Gruppe 21 mit 54,1 Mikrogramm/ml in der Galle und durchschnittlich 26,3 Mikrogramm/ml im Blut. Auffallend bei diesen Gruppen, die das

Karzinogen subcutan appliziert bekamen, war, daß die DHPN-Konzentrationen in der Gallenflüssigkeit immer etwa doppelt so hoch waren wie die vergleichbaren Werte im Blut.

4. DISKUSSION

4.1. Nitrosamine als Karzinogene

Im Rahmen der Forschungen nach den Ursachen des Pankreas-karzinoms und dessen Pathogenese wurden in den letzten Jahren verschiedene synthetisch hergestellte Karzinogene aus der Gruppe der Nitrosamine eingesetzt um mit ihnen anhand von Tiermodellen mehr Licht in die Karzinogenese des Bauchspeicheldrüsenkrebses zu bringen.

4.2. Biochemische Grundlagen

Bereits 1962 wurde über die karzinogene Potenz der Nitrosamine diskutiert (25). Schon damals konnte zum Metabolismus der Nitrosamine in vivo festgestellt werden, daß sie im allgemeinen erst durch enzymatische Oxydation in ihre reaktive Wirkform umgewandelt werden (25,13,26,4) und daß Methylnitrosamine starke methylierende Eigenschaften besitzen (4). Daher nimmt man an, daß höhere Dialkylnitrosamine primär durch β -Oxydation zu Methylnitrosoverbindungen abgebaut werden, welche dann für die Methylierung von Chromosomen verantwortlich zu machen sind.

Bereits DRUCKREY et al. (1967) wies darauf hin, daß die selektive und regelmäßige Erzeugung von Krebs in bestimmten Organen auf resorptivem Wege vor allem von solchen Substanzen zu erwarten ist, deren primär inaktive Transportform erst im Stoffwechsel zu der eigentlichen Wirkform aktiviert wird. Erste Entdeckungen dazu machten MAGGEE und BARNES 1956 (zit. in DRUCKREY 1967) am Methyl-nitrosamin (N-Nitroso-dimethylamin). Es fiel ihnen vor allem die Leberkrebs erzeugende Wirkung auf, die von DUTTON und HEATH (1965) damit erklärt werden konnte, daß die Substanz vor allem in der Leber enzymatisch demethyliert wird. Das resultierende Monomethyl-nitrosamin zerfällt unter Bildung von Dazomethan, das - nach MAGGEE - als alkylierendes Agens wahrscheinlich die eigentliche karzinogene Wirkform darstellt. Die Abspaltung von Formaldehyd beim Dimethyl-nitrosamin, - die Voraussetzung zur Bildung von Diazomethan - ist daher sozusagen als "Giftung" zu verstehen.

Nach DRUCKREY (1967) verläuft diese Giftung der Nitrosamine in mehreren Stufen. Der erste Schritt der metabolischen Aktivierung wird in einer enzymatischen alpha - C-Hydroxylierung gesehen, das entstehende alpha - Hydroxyalkyl - nitrosamin wird unter Abspaltung von Aldehyd (4) zum Monoalkyl-nitrosamin dealkyliert. Dieses ist außerordentlich instabil (und wohl gerade deswegen hoch reaktiv, daher nicht nur für akut toxische, sondern auch für karzinogene Wirkungen in Frage kommend), und kann unter Abspaltung von H_2O in Diazoalkan zerfallen. In wässrigem Medium bei Anwesenheit von H^+ -Ionen entsteht dann über das Alkyl-diazonium-Ion das direkt alkylierend

wirkende Carbonium-Ion, nach Auffassung von DRUCKREY et al. (1967) die eigentliche Wirkform.

Sowohl die Hydroxylierung als auch die Bildung des Diazoalkans setzen die Abspaltung eines H-Atoms voraus. Wenn die oben aufgeführten Stoffwechselschritte zutreffen, dürften nur solche Dialkylnitrosamine karzinogen wirksam sein, die an beiden alpha-C-Atomen wenigstens einen Wasserstoff tragen. Da ferner die Hydroxyalkylnitrosamine und erst recht die folgenden Stufen als sehr instabil gelten, wäre allein für den ersten Schritt der alpha-C-Hydroxylierung die Funktion eines Enzyms als notwendig anzusehen und zwar die Funktion von alpha-C-Hydroxylasen. Diese einfachen Enzyme kommen nicht nur in der Leber vor, sondern man findet sie auch in verschiedenen anderen Organen (Pankreas, Darmwand, Niere etc.).

Die Stoffklasse der N-Nitrosoverbindungen bietet sich für Untersuchungen über Zusammenhänge von chemischer Konstitution und kanzerogener Potenz besonders an, weil einerseits die biochemischen Abläufe besonders übersichtlich sind, andererseits der Aufbau relativ einfach ist und ziemlich leicht variiert werden kann.

4.3. Chemie der organischen N-Nitroso-Verbindungen

N-Nitroso-Verbindungen sind Substanzen der allgemeinen Formel $O=N-N \begin{smallmatrix} -R_1 \\ -R_2 \end{smallmatrix}$, wobei das charakteristische die Nitroso-
gruppe $O=N-$ ist. R_1 und R_2 können beliebige organische Reste sein.

Zur Synthese der Nitrosamine ist zu sagen, daß die Nitrosierung sekundärer Amine normalerweise in salzsaurer Lösung mit Na^+ -Nitrit-Überschuß durchgeführt wird und in aller Regel problemlos verläuft. Die gebildeten Nitrosamine scheiden sich - abhängig von ihrer Löslichkeit - aus dem Nitrosierungsansatz als gelbe Öle ab oder werden nach Salzsättigung durch Extraktion, zweckmäßigerweise mit Dichlormethan, isoliert. Reinigung erfolgt durch Vakuumdestillation bzw. Umkristallisation.

Die Löslichkeit der einzelnen Verbindungen ist sehr unterschiedlich, ein Umstand, der auch im hier vorliegenden Experiment zu Problemen führte. Sie kann von völliger Unlöslichkeit bis zur Mischbarkeit mit Wasser reichen.

In der Arbeit von DRUCKREY (1967) wurde auch die Stabilität von Nitrosoverbindungen in wässriger Lösung untersucht, ein Parameter von großer Bedeutung für die Durchführung experimenteller Versuche. Auch bei diesen Untersuchungen ergaben sich für verschiedene Nitrosoverbindungen ganz erhebliche Unterschiede. Selbst die anfangs stabilen Verbindungen unterliegen jedoch einem erheblichen Stabilitätsverlust in Abhängigkeit von der Zeit. Länger als 14 Tage scheint eine ausreichende Stabilität in keinem Fall gewährleistet zu werden können. Nicht zuletzt aus diesem Grund mußten für die Versuche dieser Arbeit mehrmals neue Ansätze des DHPN angefertigt werden.

Nitrosamine besitzen ein hohes Dipolmoment und zeichnen sich daher durch einen relativ hohen Siedepunkt aus. Als Dialkylamide der salpetrigen Säure besitzen sie praktisch

keine Basizität und lösen sich in Wasser mit neutraler Reaktion.

Nitrosamine bilden leicht Wasserstoffbrücken über den Nitroso-Sauerstoff; dies kann unter Umständen für Transportphänomene in vivo von Bedeutung sein.

4.4. Nitrosamine in der menschlichen Umwelt

Im Zusammenhang einer möglichen Beteiligung kanzerogener Substanzen bei der Karzinogenese am Pankreas des Menschen ist von Bedeutung, daß die Stoffgruppe der Nitrosamine in unserer Umwelt vielfältig angetroffen wird. Nach Untersuchungen von DRUCKREY et al. (1967) wurde in einem als essbar geltenden Pilz (*Clitocybe suaveolens*) ein typisches Nitrosamin gefunden, das p-Nitroso-methylaminobenzaldehyd. Dies ist nur ein Beispiel stellvertretend für viele, daß Nitrosamine auch als Bestandteile von Naturprodukten auftreten. Laut Aussagen von DRUCKREY (1967) konnte in Nitrit-behandeltem Fischmehl ein stark toxisch wirkender Faktor als Dimethyl-nitrosamin identifiziert werden. Zusätzlich sei noch erwähnt, daß die N-Nitrosoverbindungen häufig als Lösungsmittel, als Zusätze zu Schmierstoffen und Motorenbenzinen, zum Korrosionsschutz und sogar als Insektizide Verwendung finden. Die hochtoxischen Nitroso-methane wurden beispielsweise als Schädlingsbekämpfungsmittel vorgeschlagen. In einer Arbeit von SANDER (1971) wird insbesondere auf die Entstehung karzinogener Nitrosoverbindungen im Magen von Versuchstieren hingewiesen deren Futter mit Nitritzusätzen angereichert war.

Nitrite entstehen durch bakterielle Reduktion von Nitrat, eine Reaktion, die im menschlichen Organismus oder auch in Nahrungsmitteln stattfinden kann. Nitrat kommt reichlich im Boden vor und kann dort in das Trinkwasser und in die Pflanzen gelangen. Ein gutes Trinkwasser sollte nicht mehr als 50 mg/l Nitrat enthalten (WHO 1961). In manchen Gegenden werden, wie zum Beispiel in Emden und Bremen oder im oberschwäbischen Endmoränengebiet, durch geographische Besonderheiten bedingt, bis zu 100 mg/l gefunden. Noch sehr viel höhere Konzentrationen werden im Wasser von unsachgemäß angelegten privaten Einzelbrunnen gefunden. Auch stark nitratspeichernde Pflanzen (Spinat, Salat, Kohl, Radieschen, Mais u.a.m.), sowie ein ständig steigender Verbrauch von Stickstoffdünger in der Landwirtschaft führen zu einem immer größer werdenden Nitratangebot an den menschlichen Organismus. Man kann daher heute begründet feststellen, daß die aus den großen Nitratmengen der Umwelt entstehenden Nitrite eine gewichtige Rolle bei der Entstehung kanzerogener Nitrosoverbindungen spielen (54).

4.5. Nitrosamine im Tierversuch

In der Literatur wurden zur Erzeugung von Neoplasmen bei Versuchstieren verschiedene Karzinogene der Nitrosogruppe erprobt und auch teilweise miteinander verglichen. Als Versuchstiere dienten dabei - wie auch in dieser Arbeit - meist syrische Goldhamster, während sowohl die Art der Nitrosoverbindung, als auch deren Applikationsform in verschiedenen Versuchsansätzen variierten. Während die subcutane Applikationsform in den meisten bisher durchgeführ-

ten Untersuchungen bevorzugt wurde, was sich aus den meist über längere Zeiträume verlaufenden Versuchen erklärt (langsame Resorption), haben wir die subcutane, die intragastrale und die intraperitoneale Applikationsform parallel zueinander untersucht, um auf diese Weise Metabolisierungswege und -zeiten deutlich herauszuarbeiten. So wird denn auch aus den Ergebnissen erkenntlich, daß die ersten meßbaren Konzentrationen nach intraperitonealer Applikation gefunden wurden, daß schnell ein Maximum der DHPN-Konzentration sowohl im Blut als auch in der Galle erreicht wird und daß die Konzentration danach ebenso schnell wieder abfällt. Bei der subcutanen Applikation verliefen diese Wechsel der Konzentrationen sehr viel langsamer. Offensichtlich wird bei der intraperitonealen und intragastralen Applikation nicht alles DHPN in die Blutbahn resorbiert und über die Galle ausgeschieden, denn anders sind die sehr viel höheren DHPN-Werte in den beiden Probeflüssigkeiten nach subcutaner Applikation nicht zu erklären. Bei der intragastralen Gabe könnte ein Teil der applizierten Menge im Magen oder im Darm soweit verändert werden, daß der Stoff nicht mehr als DHPN erkennbar und damit nachzuweisen ist. Bei der intraperitonealen Applikationsform wäre beispielsweise denkbar, daß Teilmengen des Karzinogens zunächst frei im Bauchraum liegen bleiben und erst viel später zur Resorption kommen.

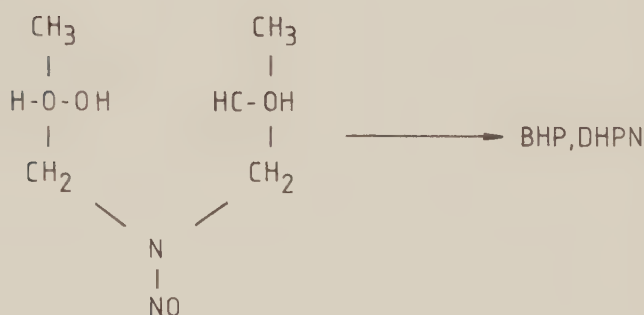
Das von uns angewandte DHPN, ein durch β -Oxydation entstandener Metabolit des DPN, findet hauptsächlich in den Untersuchungen von POUR et al. (1975a, 1974a, 1975b, 1978a, 1976a, 1976b, 1975c, 1975d, 1978b) seine Anwendung und erscheint

erstmalig 1974 (37) in Kombination mit dem syrischen Goldhamster und einer kanzerogenen Potenz auf die Bauchspeicheldrüse dieses Tieres als erfolgversprechendes Modell für Studien der Pankreaskarzinogenese. Bis dahin existierten Probleme hinsichtlich der Organspezifitäten der gewählten Karzinogene einerseits und geeigneter Tiermodelle andererseits. So traten zum Beispiel am Pankreas bei den meisten Nitrosoverbindungen nur sporadisch Neoplasmen auf, oft waren die Veränderungen diffus über den ganzen Organismus des Versuchstieres verteilt, manchmal fanden sich nur Adenome in einigen Organen, oder aber die Morphologie der induzierten Tumore entsprach nicht einmal annähernd der bei Menschen mit vergleichbaren Neoplasmen. Die meisten Tiermodelle genügten nicht der Voraussetzung in ihren topographisch-anatomischen Verhältnissen dem Menschen vergleichbar zu sein. Mit dem syrischen Goldhamster konnte diese Forderung hinreichend erfüllt werden.

Als besonders günstig hat sich die Kombination des Hamsters mit dem Karzinogen DHPN erwiesen, denn die Verteilung der induzierten Neoplasmen am Pankreas nach Karzinogenapplikation, deren Häufigkeit, ihre Folgeerscheinungen wie Gewichtsverlust, bevorzugte Metastasierungsorte, begleitender Aszites, Thrombosen und Fettgewebsnekrosen und nicht zuletzt die Morphologie der Veränderungen konnten gut mit den Verhältnissen beim Menschen verglichen werden.

4.6. Nitrosamine im Vergleich ihrer karzinogenen Potenz

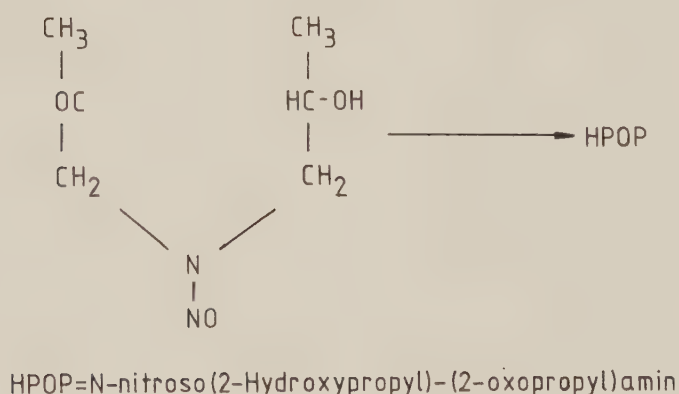
In der modernen Nomenklatur findet sich für das DHPN (2,2'-dihydroxy-di-n-propylnitrosamin) oft auch die Bezeichnung BHP (N-nitroso-bis-(2-hydroxypropyl)amin), beide Bezeichnungen stehen für die gleiche Verbindung:



Bei GINGELL (1976a, 1979) und POUR (1976a) werden zum Beispiel BHP und BOP (Nitroso-bis-(2-oxopropyl)amin) in Bezug auf die Induktion von Pankreaskarzinomen beim syrischen Goldhamster verglichen. Dabei kommen sie zu dem Ergebnis, daß beide, BHP und BOP, Tumoren induzieren, jedoch zeigte sich, daß BOP dieses in niedrigerer Dosis und in kürzerer Zeit tat als BHP. Zu den gleichen Ergebnissen kommen POUR und SALMASI (1978a). Andererseits bleibt ungeklärt, warum die gleichen Autoren oder zum Beispiel KOICHI KONISHI et al. (1977) das BHP als am besten geeignetes Karzinogen zur Erzeugung des Pankreas-

karzinoms anwenden und nicht das BOP. Auch das mit dem BHP identische DHPN wird vielfach als hochwirksames und gut spezifisches Karzinogen beschrieben.

Eine mögliche Erklärung findet sich eventuell in der Tatsache, daß BOP in BHP auf metabolischem Wege umgewandelt wird. Weil nach dieser Umwandlung beide Substanzen, sowohl BHP als auch BOP, im Organismus des Hamsters zu HPOP metabolisiert werden, schließen GINGELL et al. (1976a) daraus, daß HPOP die eigentliche Wirkform sei. Dabei wird offensichtlich nicht alles BHP und BOP in HPOP umgesetzt, denn GINGELL et al. (1976a) fanden außerdem sowohl im Blut als auch im Urin nachweisbare Konzentrationen beider Ausgangsstoffe in unveränderter Form.



Zusätzlich zum BOP und BHP wurde von POUR et al. (1976b, 1977) noch BAP (N-nitroso-bis-(2-acetöoxypropyl)amin an syrischen Goldhamstern angewandt. Das BAP, ein weiteres durch β -Oxydation aus DPN (N-nitroso-(di-n-propyl)amin)

entstandenes Karzinogen, entsprach dabei in seiner Toxizität dem BHP (DHPN). Während jedoch das DHPN bei wöchentlicher Applikation bis zu 40 Wochen bei jedem Versuchstier Pankreaskarzinome induzierte (100 %), wurde mit dem BAP nur eine Erfolgsquote von 53 - 58 % erreicht. Zurückzuführen ist dies nach Ansicht der Autoren auf kürzere Applikationszeiten. Da BAP zu BHP metabolisiert wird, ist BAP möglicherweise nur eine Transportform und es dauert dementsprechend länger bis die Wirkform BHP ihre karzinogene Potenz entwickeln kann, oder aber BAP wird nur unvollständig zur Wirkform BHP metabolisiert.

Daß nicht jeder Metabolit, der durch β -Oxydation aus DPN entstanden ist, in gleicher Weise oder zumindest auf die gleichen Organe kanzerogen wirkt, fanden POUR et al. (1974b), als sie mit 2-HPPN einen Stoff untersuchten, von dem sie annahmen, er habe eine höhere karzinogene Potenz als das DPN. Dabei stellte sich heraus, daß 2-HPPN zwar auch Tumore erzeugte, aber in erheblich geringerem Maße als DPN selbst und überhaupt nicht am Pankreas der Versuchstiere. Eine Erklärung sah POUR (1974b) möglicherweise darin, daß 2-HPPN durch einen Entgiftungsprozeß seine kanzerogene Potenz einbüßt, denn 40 % der Substanz werden als β -Glucuronid im Urin ausgeschieden. Eventuell spielen auch Konzentrationsunterschiede bei derartig differierenden Ergebnissen eine Rolle, denn POUR (1975b) beschrieb zumindest ein geringeres Auftreten von Pankreasgangadenomen nach 2-HPPN-Applikation s.c. in Abhängigkeit von dessen Konzentration.

4.7. Metabolismus der Nitrosamine

DRUCKREY und Mitarb. (1968) fanden zufällig beim Meerschweinchen, daß diese nie spontan Pankreastumore entwickelten. Das von ihnen angewandte Karzinogen MNU (Methylnitroso-urethan) wurde den Tieren mit dem Trinkwasser verabreicht und erzeugte bei vielen der Versuchstiere Neoplasmen an der Bauchspeicheldrüse. DRUCKREY und Mitarb. (1968) schlossen daraus, daß die Pankreaskarzinome wohl nur auf eine resorptive Wirkung des MNU bezogen werden können. Die auffallende Häufung sprach nach Ansicht der Autoren für eine Organotropie der Substanz zum Pankreas des Meerschweinchens.

Eine andere Erklärung für diese Befunde könnte in der Tatsache zu finden sein, daß nach oraler Applikation von Nitroverbindungen die höchsten Konzentrationen in der Leber gefunden werden und daß Leberenzyme eine entscheidende Rolle bei der Giftung der Stoffe spielen (4,13). Möglicherweise werden die so gifteten Nitroverbindungen über die Galle ausgeschieden und könnten so - über einen Reflux der Gallenflüssigkeit - mit dem Pankreas direkt (und nicht nur resorptiv) in Berührung kommen. Voraussetzung wäre ein Nachweis des Karzinogens in der Gallenflüssigkeit sowie eine signifikant höhere Tumorraten in solchen Organregionen, die unter physiologischen Bedingungen mit der Gallenflüssigkeit in Berührung kommen können.

Diese Fragestellung war eines der Schwerpunktthemen der vorliegenden Arbeit. Es konnte dabei nachgewiesen werden, daß unabhängig von der Applikationsweise in Abhängigkeit von der Zeit in jeder Versuchsgruppe das Karzinogen in der

Galle festgestellt werden konnte, und zwar zum Teil in erheblichen Mengen. Da es sich bei der Methode der Gallengewinnung um ein Vorgehen in einem geschlossenen System handelte, bei dem man davon ausgehen kann, daß die aspirierte Gallenflüssigkeit nicht von außen mit dem Karzinogen kontaminiert werden kann, ist als einzige Interpretation die Metabolisierung des DHPN über die Leber mit anschließender Ausscheidung über die Galle denkbar. In diesem Zusammenhang kann auch auf die Ergebnisse der Vorversuchsserie verwiesen werden. Dort war besonders bei den Langzeitversuchen, die sich über drei Monate erstreckten, zu beobachten, daß besonders das Lebergewebe von der permanenten DHPN-Applikation alteriert war und bei den meisten Tieren tumoröse Veränderungen zeigte. Da die Injektionsstelle topographisch weit von der Leber entfernt gelegen war (subcutan in die Rückenhaut, Abb. 2), ist auch nicht von einer direkten Kontamination des Lebergewebes auszugehen. Die Schlüsselposition der Leber bei der Metabolisierung der Nitrosamine kommt auch in der deutlich verlangsamten Galleproduktion zum Ausdruck, die ebenfalls innerhalb der Langzeitversuche zu erkennen war. Schließlich sei weiter darauf hingewiesen, daß sich im Blut der Pfortader bei vielen Versuchstieren etwas mehr Karzinogen wiederfand, als im Blut der Vena cava inferior, besonders nach intraperitonealer und subcutaner Applikation. Dies könnte darauf hinweisen, daß das von der Injektionsstelle resorbierte DHPN in zunehmendem Maße in Richtung Pfortader konzentriert wird und so der Leber zur Metabolisierung zugeführt wird.

4.8. Organotropie der Nitrosamine

Wie problematisch es sein kann, ein geeignetes Karzinogen mit einem Tiermodell so zu kombinieren, daß die erzielten Ergebnisse sinnvoll und überzeugend auf menschliche Verhältnisse übertragen werden können, wird eindrucksvoll durch eine Arbeit von KONISHI und Mitarb. (1977) dokumentiert. Auch in dieser Arbeit wurde das BHP als Karzinogen angewandt, als Tiermodell dienten jedoch nicht syrische Goldhamster oder Meerschweinchen, sondern Mäuse. Dabei war besonders auffallend, daß bei diesem Tiermodell zwar auch Lungen- und Lebertumoren erzeugt werden konnten, jedoch kein einziger Pankreastumor (obwohl die anatomischen Verhältnisse der Mäuse den Verhältnissen beim Hamster in den wesentlichen Punkten entsprechen (58)). KONISHI (1977) führt dies auf möglicherweise unterschiedliche Stoffwechselleistungen der Leber oder differierende Empfindlichkeiten des Pankreasparenchyms zurück.

Auch andere Metaboliten des DPN und das DPN selbst zeigten wenig befriedigende Ergebnisse hinsichtlich ihrer kanzerogenen Potenz und der Organotropie bezüglich der Bauchspeicheldrüse von Versuchstieren. Als relativ effektiv erwies sich bei Untersuchungen von MOHR et al. (1977) noch das DMNM (2,6-dimethyl-nitrosomorpholin), das er syrischen Goldhamstern intragastral verabreichte. Dabei erzeugte er eine maximale Tumorrates an der Bauchspeicheldrüse von 71 %, beschrieb jedoch über das ganze Organ verteiltes Auftreten der Adenome und Adenokarzinome. Im Zusammenhang mit der Suche nach Metabolisierungswegen ist dabei besonders das gehäufte Auftreten von Tumoren in den intrahepatischen Gallenwegen und in der Gallenblase hervorzuheben; offen-

sichtlich kann man davon ausgehen, daß auch das DMNM über die Leberenzyme metabolisiert wird und daher in den Gallengängen und der Gallenblase relativ hohe Konzentrationen dieser Verbindung angetroffen werden. Möglicherweise ist das Gallengangsepithel auch besonders empfindlich gegen diese Nitrosoverbindung.

DPN, der Ausgangsstoff aller bisher beschriebenen Nitrosamine, entsteht selbst durch β -Oxydation aus N-6-MI (Nitrosohexamethylenimin). POUR et al. (1973) haben DPN näher untersucht. Sie applizierten es syrischen Goldhamstern einmal wöchentlich subcutan und fanden, daß es ganz ähnlich wirkte wie DEN (diäthylnitrosamin) und DBN (di-n-butylnitrosamin), NP (Nitrosopiperidin), NM (Nitrosomorpholin) und auch N-6-MI, seinem vermutlichen Ausgangsstoff. Tumore erzeugte es hauptsächlich im Respirationstrakt, nur in geringerer Zahl auch an anderen Organen. Es fand sich in dieser Arbeit über das DPN aber kein Hinweis auf Pankreasveränderungen, besonders bemerkenswert deshalb, weil BHP (DHPN), ein Metabolit des DPN, bei den Versuchstieren Neoplasmen an der Bauchspeicheldrüse induzierte.

4.9. DHPN, ein gut untersuchtes und hoch spezifisches Nitrosamin

Aus allen bisher vorliegenden Untersuchungen kristallisiert sich deutlich das DHPN (= BHP, DIPN) als geeignetste Nitrosoverbindung heraus, wenn es darum geht, Pankreaskarzinome an Versuchstieren in hoher Inzidenz und Organ-

spezifität zu induzieren.

Bevor jedoch die in der hier vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen zum Metabolismus des DHPN beim syrischen Goldhamster diskutiert werden, sollten noch einmal die bisher vorliegenden Erkenntnisse, vor allem von POUR et al. (1973) und von LEVITT et al. (1977) über diesen Stoff zusammengefaßt werden.

Bei deren Experimenten handelte es sich im wesentlichen um Finalversuche, das heißt, nachdem die Tiere ca. 40 bis 50 Wochen lang einmal wöchentlich eine definierte Menge des Karzinogens erhalten hatten (in den meisten Fällen DHPN, Applikationsart subcutan, Menge 125-500 mg/kg Kg. je nach Versuchsgruppe) und nach dieser Zeit wegen der entstandenen Tumore ad exitum kamen, wurden sie obduziert.

Die genannten Autoren, ebenso wie RÜCKERT und Mitarb. (1978b, 1979, 1981 i.Dr.), kommen übereinstimmend zu dem Ergebnis, daß DHPN nach frühestens 14 - 15 Wochen zu makroskopisch sichtbaren Veränderungen am Pankreas führt und im weiteren Verlauf der Versuche bei allen Tieren Neoplasmen an der Bauchspeicheldrüse induziert werden können. Darüberhinaus besteht Übereinstimmung in der beobachteten Lokalisation der Karzinome und zwar verteilen sich diese - entsprechend den Befunden beim Menschen - über das ganze Organ mit zunehmender Häufigkeit in Richtung Kopfteil der Drüse. Letzteres scheint jedoch nur für die voll ausgebildeten Tumore zu gelten, denn abweichend von diesen makroskopischen Befunden finden sich auf mikroskopischer Ebene Veränderungen präkanzeröser Art über das ganze Organ gleichmäßig verteilt.

Weitgehende Übereinstimmung besteht auch in der Erkenntnis, daß die Veränderungen ausschließlich vom Gangepithel der Pankreasgänge ausgehen (59).

Es wird sowohl von POUR et al. (1975a), als auch von LEVITT et al. (1977) und RÜCKERT et al. (1979a, 1979b, 1980) berichtet, daß es nach Gabe von DHPN neben der Entwicklung von Karzinomen und präkanzerösen Veränderungen fast immer zu Ganghyperplasien kommt. LEVITT et al. (1977) führte elektronenmikroskopische und mikroskopische Untersuchungen an der Bauchspeicheldrüse des syrischen Goldhamsters nach DHPN-Applikation durch. Auch diese Untersuchungen bestätigten, daß alle Veränderungen ausschließlich vom Gangepithel der Drüse ausgehen. Sehr bemerkenswert ist dabei die Entdeckung, daß elektronenoptisch die ersten Veränderungen bereits nach 4 - 24 Stunden nach Karzinogenapplikation beobachtet werden konnten. Es handelte sich dabei um unspezifische Schwellungen der endoplasmatischen Reticula und anderer cytoplasmatischer Kompartimente. Diesen Veränderungen folgen die Gangepithelhyperplasien, die wiederum zu Adenomen und schließlich zu intraductalen und invasiven Neoplasmen führen.

Bringt man diese Beobachtungen mit den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen in Zusammenhang, so deutet dies auf die außerordentlich hohe Empfindlichkeit des Gangepithels gegenüber dem DHPN hin. Denn das Karzinogen, das nach unseren Beobachtungen nach 2 - 3 Stunden seine maximale Konzentration in der Gallenflüssigkeit und im Blut erreicht, bewirkt demnach schon kurze Zeit später die von LEVITT (1977) beobachteten Veränderungen, und dies offensichtlich bereits nach einer einmaligen Applikation. Es bleibt die

Frage, warum gerade das Gangepithel des Pankreas eine derartige Empfindlichkeit zeigt, denn den eigenen Ergebnissen zufolge sind sowohl das Epithel der Gallengänge und der Gallenblase als auch das Endothel der Gefäße den gleichen Karzinogenkonzentrationen ausgesetzt. Entweder handelt es sich tatsächlich nur um eine ganz besonders hohe Empfindlichkeit des Pankreasgangepithels (während die anderen kontaminierten Gewebe Schutzmechanismen entwickeln können), oder es bedarf einer längeren Verweildauer an einer Stelle, die in den Pankreasgängen möglicherweise gegeben ist, in den Blutgefäßen jedoch sicher nicht. Auch in den Gallengängen ist die Fließgeschwindigkeit nach den eigenen Beobachtungen relativ konstant und für eine genügend lange Einwirkzeit des Karzinogens möglicherweise zu hoch.

4.10. Gallereflux als Ursache der häufigen Pankreaskopfkarzinome

Unterschiedliche Beurteilung erfährt die Frage, ob der - physiologisch sowohl beim Menschen als auch beim Hamster mögliche - Gallen- und Duodenalsaftreflux für das im Kopfbereich der Bauchspeicheldrüse gehäuft auftretende Karzinom mitverantwortlich gemacht werden kann. Neben der Gallerefluxtheorie wird außerdem diskutiert, daß karzinogene Substanzen aus dem Blut resorbiert werden und dann in die kleinen Pankreasgänge sezerniert werden. Dort würde die Konzentration durch den Zusammenfluß kleinerer Gänge in Richtung auf den Pankreaskopf kontinuierlich ansteigen und auf diese Weise in dieser Region zu vermehrt auftretenden Neoplasmen führen. Vieles deutet jedoch darauf hin, daß der Grund nicht nur bei einem der beiden Mechanismen

zu suchen ist, sondern daß es sich bei diesem Phänomen um ein Zusammenwirken beider Möglichkeiten handelt.

Bei LEVITT et al. (1977) wird die Möglichkeit eines Gallerefluxes zwar als möglich beschrieben, jedoch aufgrund der gefundenen Ergebnisse als unwahrscheinlich zurückgewiesen. Die Begründung dieser Ablehnung sieht LEVITT (1977) in der Tatsache, daß die ersten Veränderungen auf elektronenoptischer Ebene distal der Vereinigung der drei großen Pankreasgänge gefunden wurden und erst in Abhängigkeit von der Zeit nach und nach in immer größeren Gängen zu finden waren. Nach seiner Ansicht deutet dies darauf hin, daß nach subcutaner Applikation des DHPN dieses von Parenchymzellen aufgenommen und in die Gänge sezerniert wird. Darauf, daß dies aber nicht die einzige Ursache für die erhöhte Inzidenz der Tumore am Kopf der Drüse sein muß und die Theorie des Gallerefluxes durchaus ihre Berechtigung hat, weisen die eigenen Ergebnisse hin. Dabei wurde nämlich besonders in der Vorversuchsserie deutlich, daß meßbare DHPN-Konzentrationen im Blut bereits wenige Minuten nach Karzinogenapplikation vorhanden waren, während es einige Zeit länger dauerte, bis auch in der Galle derartige Konzentrationen gefunden werden konnten. So ist es durchaus verständlich, daß im zeitlichen Zusammenhang zuerst die von LEVITT (1977) beschriebene Aufnahme kanzerogener Substanzen aus dem Blut erfolgt und aus diesem Grunde denn auch zuerst die kleinen Pankreasgänge mit dem Karzinogen in Berührung kommen. Etwas später wird dann aber auch in der Galle eine deutliche DHPN-Konzentration zu messen sein, so daß dann sowohl seitens des Blutes als auch durch die Gallenflüssigkeit das Pankreasgangepithel mit dem Karzinogen in Berührung kommt. Dabei entsteht erstens durch

den Zusammenfluß der kleinen Gänge und zweitens durch den Gallereflux die höchste Karzinogenkonzentration im Kopfbereich der Drüse.

Eine eindeutige Ablehnung der Gallerefluxtheorie findet sich bei POUR (1975b). Als Grundlage dafür dienen ihm seine Beobachtungen einer gleichmäßigen Verteilung der Veränderungen über das ganze Organ und eine geringere Häufigkeit echter Karzinome im Kopf der Bauchspeicheldrüse. Es sei an dieser Stelle aber noch einmal darauf hingewiesen, daß es sich bei den Experimenten von POUR stets um Finanzversuche handelte, bei denen die Tiere an voll entwickelten Tumoren ad exitum kamen und erst dann obduziert wurden. Diese Tumoren hatten nach 40 bis 50 Wochen teilweise bereits Größen bis zu 4 cm Durchmesser angenommen, was eine Zuteilung zu etwaigen Entstehungsorten sicherlich schwierig, wenn nicht unmöglich gestaltete. Außerdem erhielten die Versuchstiere das Karzinogen ausschließlich subcutan, eine Applikationsart, die möglicherweise die Karzinogenaufnahme über die Parenchymzellen des Pankreas tatsächlich begünstigt und eine mehr gleichmäßige Tumerverteilung zur Folge hat. Andererseits bedingt gerade die intragastrale Aufnahme von Karzinogenen besonders deutlich eine Karzinomhäufung am Pankreaskopf (51), eine Applikationsart, die von POUR nie versucht wurde und wohl - bezogen auf den Menschen - die physiologischere ist.

Bei POUR (1975a) finden sich immer wieder Hinweise auf die Veränderungen die sich zuerst am Gangepithel der Drüse abzeichnen. Gerade diese Lokalisation spricht nach POUR (1977) für die Sekretionstheorie. Jedoch ist zweifellos das Gang-

epithel der Bauchspeicheldrüse dasjenige Gewebe, welches im Falle eines Gallerefluxes am ehesten mit karzinogenhaltiger Galle in Kontakt käme und zwar zuerst und in höchsten Konzentrationen in den großen Gängen im Kopf der Drüse. In einer Arbeit von TAKAHASHI und POUR (1977a) wurden zum Beispiel ein Drittel aller Pankreaskopfkarzinome im periampullären Bereich gefunden, der Gegend also, an der wohl sicher die höchsten Karzinogenkonzentrationen bei Gallereflux zu erwarten wären. Die meisten anderen Tumore lagen bei dieser Untersuchung entlang der Hauptgänge. Auffällig war allerdings, daß im Gegensatz zu den anderen Autoren hier die ersten Veränderungen in Form von Nekrosen oder eosinophilen Degenerationen nach 9 Wochen auftraten und zwar nicht wie sonst an den Gangepithelien, sondern an den Drüsenzellen.

Entgegen den Befunden POURS (1974a) einer mehr diffusen Verteilung der Tumore über das ganze Organ finden sich bei REBER et al. (1977) eindeutig die meisten und größten Tumore im Kopfbereich der Drüse, obwohl DHPN ausschließlich subcutan appliziert wurde. Bei diesen Versuchen wurden die Tiere jedoch nicht erst dann obduziert, wenn sie an voll ausgebildeten Karzinomen ad exitum gekommen waren, sondern nach vorher festgelegten Zeiträumen von 12 - 30 Wochen. Interessant sind außerdem die Befunde an der Leber. So fanden sich bei 70 % der Tiere, die Pankreaskarzinome entwickelt hatten, histologisch völlig gleichartige Adenokarzinome der Leber, bzw. 90 % der Tiere mit Leberneoplasmen hatten auch Pankreastumore. Ähnliche Ergebnisse erbrachte auch eine Arbeit von POUR (1975c). Diese Leberadenokarzinome wurden bei keinem einzigen Tier ohne Pankreaskrebs gefunden. Weiter geht aus dieser Untersuchung hervor, daß sich im Laufe der Zeit die kleinen Gallengänge

in der Leber in genau der gleichen Weise veränderten (Hyperplasie) wie das die kleinen Pankreasgänge tun, beide jeweils nach Gabe von DHPN. Durch eigene Ergebnisse können diese Befunde dadurch erklärt werden, daß Konzentrationen, die in kurzer Zeit zu Veränderungen an den kleinen Pankreasgängen führen, nach einiger Zeit entsprechende Veränderungen auch an den kleinen Gallengängen hervorrufen. Das zeitlich verzögerte Auftreten in den Gallengängen ist wahrscheinlich konzentrationsabhängig, denn erst nach dem Zusammenfluß aller Gänge bildet sich in der Gallenblase jene Konzentration des Karzinogens, die dann über den Reflux auf das Epithel der Pankreasgänge wirkt. Wenn man außerdem von jenem Teil der eigenen Ergebnisse ausgeht, der die enorme Geschwindigkeit der Stoffwechselvorgänge deutlich macht, die sich offenbar bei der Metabolisierung des DHPN im Organismus der Versuchstiere abspielt und wenn man weiter berücksichtigt, daß es Enzyme der Leber sind die dabei eine Schlüsselrolle spielen, so wird verständlich, warum die Leber in so erheblichem Maße in Mitleidenschaft gezogen wird. Außerdem deutet die zentrale Position der Leber schon allein darauf hin, daß die von ihr vergifteten und dadurch karzinogenen Stoffe über die Galle ausgeschieden werden, eine These, die bisher weder qualitativ noch quantitativ bestätigt werden konnte. Die eigenen Ergebnisse stimmen mit dieser These - Karzinogenaufnahme, Metabolisierung über die Leber, Ausscheidung über die Galle - vollkommen überein.

Da demnach anzunehmen ist, daß die Gallenflüssigkeit Träger kanzerogener Substanzen sein kann, stellt sich die Frage, warum dann nicht mehr Gallengangs- und Gallenbla-

sentumoren auftreten. Immerhin fanden POUR et al. (1977) Gallenblasentumore und zwar in strenger Korrelation zur applizierten Menge des Karzinogens und nur bei Tieren, die auch Pankreastumore entwickelt hatten. Auch unsere eigenen Ergebnisse weisen darauf hin, daß die DHPN-Konzentrationen in der Gallenflüssigkeit nach Ablauf einer relativ kurzen Zeitspanne höher waren als die vergleichbaren Konzentrationen im Blut zur gleichen Zeit. Bisher war es uns nicht möglich, in der Galle Konzentrationen während der ersten Stunde nach erfolgter DHPN-Applikation zu messen, so daß Vergleiche zwischen Blut und Galle für diesen Zeitabschnitt nicht vorliegen. Diese Ergebnisse waren bei unseren Untersuchungen unabhängig von der Applikationsart zu dokumentieren. Daß diese dennoch eine entscheidende Rolle spielt, wird bei GINGELL (1977) deutlich, der nach oraler Gabe von BOP das Gallengangssystem am deutlichsten alteriert fand und nur wenige Pankreasveränderungen beobachten konnte. Es muß hier noch einmal darauf hingewiesen werden, daß die Verhältnisse beim BOP insofern anders liegen, als es erst im Organismus gegiftet wird was dazu führt, daß die Leber und das Gallengangssystem die ersten Gewebe sind, die mit karzinogenen Stoffen kontaminiert werden. So wird auch der Befund von GINGELL (1977) zu erklären sein, daß nach oraler Applikation des BOP in der Galle und im Blut geringere Konzentrationen dieses Karzinogens gefunden wurden als nach intraperitonealer Applikation. Höchstwahrscheinlich wird nach oraler Gabe eine geringere Menge in den Metabolismus einbezogen als nach intraperitonealer Gabe.

Die intragastrale Applikationsform sollte bei Untersuchungen zum Stoffwechsel einer Substanz immer mit berücksich-

tigt werden. Bereits DRUCKREY et al. (1967) wiesen darauf hin, daß die Karzinogenkonzentration nach intragastraler Applikation in der Leber am höchsten ist und die Substanz am ehesten nachzuweisen ist - ein wichtiger Aspekt, der bei subcutaner Applikation sehr viel geringer ausgeprägt ist, weil die Leber dabei erst spät in den Metabolisierungsprozeß einbezogen wird. Auch hinsichtlich der Verhältnisse beim Menschen ist die orale Aufnahme karzinogener Nitrosoverbindungen wohl am ehesten anzunehmen.

Von RÜCKERT et al. (1978b) wurden die Applikationsformen subcutan und intragastral direkt miteinander verglichen. Dabei stellte sich heraus, daß unter sonst vollkommen gleichen Versuchsbedingungen 75 % derjenigen Versuchstiere, die das Karzinogen per Magensonde erhielten, ein Pankreaskarzinom entwickelten, dagegen nur 30 % in der Gruppe derjenigen, die das DHPN subcutan erhielten. In beiden Gruppen waren die Veränderungen am Pankreas im Sinne von Präkanzerosen über das ganze Organ diffus, d.h. über alle drei Lappen, verteilt; sicher ein Hinweis darauf, daß neben einem Gallereflux auch über das Blut DHPN an die Pankreaszellen gelangt. Besonders eindrucksvoll war aber die Verteilung der voll ausgebildeten Tumore, von denen nach subcutaner Applikation erstens sehr viel weniger und zweitens kein einziges im Kopfbereich der Drüse auftraten. Demgegenüber war die überwiegende Anzahl der Tumore dann im Pankreaskopf, wenn DHPN per Magensonde gegeben wurde. Um sicher zu gehen, daß nicht nur der sicher karzinogenehaltige Duodenalsaft bei einem möglichen Reflux zu berücksichtigen sei, wurden weitere Untersuchungen notwendig mit qualitativen und quantitativen DHPN-Bestimmungen in der Galle, wie sie die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen.

Von RÜCKERT et al. (1981 i.Dr.) wurde ein weiterer Beitrag zur Klärung dieser Frage geleistet. Der Versuchsan-
satz in dieser Arbeit entsprach den schon bekannten Stan-
dardbedingungen (syrische Goldhamster, DHPN, Applikation
des Karzinogens s.c. und i.g.). Zusätzlich wurde bei ei-
ner Gruppe von Tieren der Ausführungsgang des größten
Pankreaslappens ligiert. Neben der Tatsache, daß die Er-
gebnisse von früheren Untersuchungen (51) wiederholt
und bestätigt werden konnten, hatte die Milzlappenliga-
tur eine drastische Reduktion der Wirksamkeit des Karzi-
nogens zur Folge und zwar besonders nach intragastraler
Gabe von DHPN. Von den auswertbaren Tieren dieser Gruppe
entwickelte kein einziges Tier ein Karzinom im Milzlappen,
ganz im Gegensatz zur Vergleichsgruppe ohne Ligatur, die
in 56 % Pankreaskopfkarzinome entwickelten. Nach subcu-
taner Gabe des DHPN und Milzlappenligatur kam es zu dif-
fus auftretenden Präkanzerosen, jedoch in deutlich gerin-
gerer Anzahl als ohne Ligatur. Zusammengefaßt deuteten
diese Befunde darauf hin, daß sowohl ein Reflux von Galle
und Duodenalinhalt, als auch eine Sekretion in die kleinen
Pankreasgänge für das gehäufte Auftreten der Tumore am
Kopf der Drüse verantwortlich zu machen sind. Bezogen auf
die ersten Veränderungen, die sich nach übereinstimmenden
Beobachtungen immer an den Gangepithelien manifestieren,
könnte man davon sprechen, daß die Gallerefluxtheorie
einerseits und die Sekretionstheorie andererseits beide
an diesen Gangepithelien zusammenlaufen.

Beim Menschen tritt das Pankreaskarzinom bei Männern etwa
doppelt so häufig auf wie bei Frauen. Wie bedeutungsvoll
diese Tatsache im Zusammenhang mit den eigenen Untersuchun-

gen ist, wird deutlich, wenn man die Befunde von REYES et al. (1978) berücksichtigt. Dieser untersuchte den Einfluß der Schwangerschaft auf den Gallenfluß bei Hamstern und stellte fest, daß der bei trächtigen Hamstern erhöhte Östrogenspiegel die Produktion und damit auch den intra-ductulären Druck der Gallenflüssigkeit signifikant senkte. Auf den Menschen übertragen hieße das, daß Frauen, die ohnehin einen höheren Östrogenspiegel als Männer haben und oft während mehrerer Jahre Östrogenhaltige Medikamente einnehmen, einen niedrigeren Druck der Galle im Gallengangssystem haben. Da aber für den Gallereflux über den Ductus wirsungianus ein gewisser Mindestdruck notwendig sein muß, wird dieser möglicherweise bei vielen Frauen wegen des gegenüber den Männern relativ hohen Östrogenspiegels gar nicht erreicht. Zusätzlich fällt auf, daß gerade das Pankreaskarzinom eine Erkrankung des höheren Lebensalters ist und daß sich im hohen Alter, in der auch bei der Frau der Östrogenspiegel stark abnimmt, die Erkrankungshäufigkeit der Frauen sich derjenigen der Männer allmählich angleicht (60). In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß bei den bisher beschriebenen Versuchen am syrischen Goldhamster diese signifikanten Geschlechtsunterschiede nicht oder zumindest nicht in dem Maße erkennbar wurden (32,42,45).

Untersuchungen darüber, ob bei den durchweg 8 Wochen alten, also relativ jungen Versuchstieren, überhaupt wesentliche Unterschiede in den Blutöstrogenspiegeln auftraten, liegen nicht vor.

Wichtige Voraussetzungen dafür, daß es überhaupt zu einem Gallereflux kommen kann, sind Druckunterschiede zwischen

Gallengangssystem und Pankreasgangsystem. Diese können durch verschiedene Ursachen entstehen. So wird beschrieben, daß nach Mahlzeiten der Gallendruck den des Pankreassaftdruckes übersteigen kann, daß Nikotin, ein postulierter Risikofaktor für Pankreaskarzinome, den Druck im Gangsystem der Bauchspeicheldrüse senkt, daß ein Stein, der in der Papilla Vateri eingeklemmt ist deshalb zu einem Gallereflux führen kann, weil pro Zeiteinheit mehr Galle - die in einem solchen Fall nicht mehr abfließen kann - als Pankreassekret produziert wird. Mit dieser Beobachtung korreliert die Tatsache, daß das Pankreaskarzinom überdurchschnittlich oft mit Gallensteinen vergesellschaftet ist (7,60). Außerdem fällt vor allem bei Frauen die Koinzidenz von Cholecystektomie und Bauchspeicheldrüsenkrebs auf (möglicherweise fehlt in diesen Fällen die ausgleichende Poolfunktion der Gallenblase mit daraus resultierendem höheren Galledruck), weiterhin kann es durch einen Spasmus des Sphinkter Oddi oder durch ein Ödem der Papilla Vateri (durch gestörte nervöse und hormonelle Kontrolle des Sphinkter, durch entzündliche Veränderungen, durch HCl-Übersekretion oder durch Morphin- oder Opiumalkaloidgaben) zu einem relativ erhöhten Galledruck kommen.

Zusätzlich zu den bisher erwähnten Tatsachen und Überlegungen bezüglich eines Gallerefluxes wird in Zukunft noch zu diskutieren sein, ob nicht die Gallensäuren selbst, zum Beispiel die Desoxycholsäure, kanzerogene oder kokanzerogene Wirkungen haben (33).

Um der Frage nachzugehen, was geschieht, wenn man einen Gallereflux gänzlich ausschließt, erarbeiteten RÜCKERT et al. (1979) ein Modell, in dem sie bei ihren Versuchstieren eine Choledochojejunostomie anlegten. Der übrige Versuchsansatz entsprach den schon erwähnten Standardbedingungen. Es stellte sich dabei heraus, daß nach Choledochojejunostomie eine signifikante Verringerung der Karzinominzidenz zu beobachten war und zwar entwickelten sich nur noch bei ca. 5 % der Tiere nach Ablauf von 20 Wochen Tumore an der Bauchspeicheldrüse (gegenüber einem Wert von 70 - 80 % bei den Kontrolltieren) und auch die Entwicklung der präkanzerösen Veränderungen war nach dem Anlegen einer Choledochojejunostomie deutlich geringer. Im Übrigen ergab sich kein Unterschied der Tumorzinzidenz in Abhängigkeit von der Applikationsweise. Als Ergebnis dieser Versuche sahen RÜCKERT et al. (1979) erneut die Galle als möglichen Träger des Karzinogens bestätigt, ohne bis zu diesem Zeitpunkt über definitive Konzentrationsbestimmungen verfügen zu können.

Anderslautende Ergebnisse von POUR et al. (1978b), die nach Cholecystoduodenostomie und Choledochostomie keinen Unterschied der Karzinominzidenz fanden, können dahingehend interpretiert werden, daß es sich bei den Versuchen dieser Arbeitsgruppe auch in diesem Fall um Finalversuche handelte, bei denen die Tumorgößen nach ca. 35 Wochen derartige Ausmaße angenommen hatten, daß über eine Verteilung wahrscheinlich keine Aussagen mehr gemacht werden konnten.

PETERS et al. (1979) diskutieren in diesem Zusammenhang die Frage, ob möglicherweise die Cholecystektomie beim Menschen als prädisponierender Faktor in der Genese des kolorektalen Karzinoms angenommen werden kann. Dabei gingen sie von der Beobachtung aus, daß eine erhöhte Koinzidenz von Dickdarmkrebs und Cholecystektomie besteht. Neben anderen Ursachen dafür, auf die hier nicht näher eingegangen werden soll, wird darauf hingewiesen, daß nach Entfernung der Gallenblase eine kontinuierliche Entleerung der Gallenflüssigkeit in den Darm erfolgt. Neben der möglichen kanzerogenen und kokanzerogenen Wirkung der Gallensäuren selbst (z.B. Desoxycholsäure), kommt der Überführung von Gallensäuren in kanzerogene Metaboliten durch Anaerobier in der Darmlichtung eine besondere Bedeutung zu. Außerdem ist die Passagezeit im Dickdarm relativ langsam, was verlängerten Kontakt zum Schleimhautepithel und genügend Zeit für die Anaerobier zur Folge hat. Auch diese Beobachtungen von PETERS (1979) weisen erneut darauf hin, daß die Galle selbst zumindest kokanzerogene Eigenschaften besitzen könnte und somit bei der Frage der Pankreaskarzinogenese nicht übersehen werden darf.

Wie weit auseinander die Meinungen über den Metabolismus der Nitrosamine und damit auch über die Pankreaskarzinogenese bei den Versuchstieren immer noch gehen, wird in einer erst kürzlich erschienenen Arbeit von GINGELL et al. (1979) deutlich. Grundlagen dieser Untersuchung waren erstens die vergleichenden Beobachtungen an syrischen Goldhamstern und Ratten und zweitens die Möglichkeit, über C¹⁴-markierte Nitrosaminverbindungen detaillierte Aussagen über die Stoffwechselwege dieser Nitrosamine zu treffen.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß GINGELL (1979) neben der Gallerefluxtheorie jetzt auch die Sekretionstheorie ablehnen mußte und vielmehr eine systemische Wirkung der Nitrosamine annahm. Außerdem konnte beobachtet werden, daß die i.p.-applizierten Nitrosamine bis zu 67 % der gegebenen Dosis als CO_2 abgeatmet wurden und dies innerhalb von 24 Stunden.

Was jedoch diese Befunde bedeuten und wie eine systemische Wirkung der Nitrosamine bestimmte Organotropien erklären können, insbesondere die Frage nach der besonderen Häufigkeit der Pankreaskopftumore, konnte - zumindest in dieser Arbeit - noch nicht geklärt werden.

4.11. Eigene Ergebnisse, experimentelle Probleme, offene Fragen

Die Zeitintervalle zwischen der Karzinogenapplikation und der Probeentnahme wurden bei den Vorversuchen der eigenen Untersuchungen bewußt weit gestreut da es bislang keinerlei Anhaltspunkte gab, in welchen Zeitabständen nach der Applikation das DHPN in den Körperflüssigkeiten Blut und Galle nachgewiesen werden kann. Einen ersten Hinweis darüber erbrachten die negativen Proben der Gruppen 4 - 11, d.h., bereits 24 Stunden nach der DHPN-Applikation konnte in den Blut- und Galleproben kein DHPN mehr nachgewiesen werden, und zwar unabhängig von der Applikationsform. Selbst bei den Langzeitversuchen der Gruppen 10 und 11, bei denen das Karzinogen einmal wöchentlich über drei Monate subcutan verabreicht wurde, konnten eine Woche nach Gabe der

letzten Dosis keine meßbaren Konzentrationen gefunden werden. Das ließ darauf schließen, daß das Karzinogen relativ schnell und vollständig im Organismus des Hamsters metabolisiert wurde und selbst die durch die subcutanen Injektionen angelegten Depots des DHPN in der Rückenhaut schnell geleert wurden. Diese Befunde basieren allerdings auf einer 40 %-igen recovery und es kann nicht beurteilt werden, in welchem Maße eine höhere Wiederfindungsrate zu anderen Befunden geführt hätte. Für die Proben der Gruppe 14 - 21 konnte die recovery auf 60 % gesteigert werden.

Die ersten meßbaren Konzentrationen des DHPN konnten in der Galle nach 80 Minuten beobachtet werden. Die Angabe dieses Zeitpunktes sagt jedoch nichts darüber aus, ob nicht auch schon früher - entsprechend den Befunden aus den Blutproben - das Karzinogen in der Galle auftritt. Ausgehend von einer erforderlichen Mindestmenge von 0,5 ml Gallenflüssigkeit war es aber nicht möglich, vor Ablauf dieser Zeit genügend Galle zu gewinnen. Denn allein die reine Aspirationszeit betrug wenigstens 60 Minuten, zuzüglich der zur Narkose und Präparation des Tieres benötigten Zeit von 15 - 20 Minuten.

Aus der - verglichen mit den Blutproben - sehr viel längeren Entnahmezeit der Galleproben ergibt sich in diesem Zusammenhang eine Schwierigkeit hinsichtlich der Vergleichbarkeit der Ergebnisse von Blut und Galle. Bei den Ergebnissen der Blutproben handelt es sich um echte "Momentaufnahmen", d.h., die in den Ergebnistabellen angegebenen

DHPN-Konzentrationen beziehen sich auf einen definierten Zeitpunkt der Blutentnahme. Demgegenüber repräsentiert die entsprechende Zeitangabe für die Gallenproben lediglich den Zeitpunkt der Gallenblasenpunktion, von dem aus bis zum Erhalt der Probe noch einmal 60 Minuten vergehen. Die Konzentrationsangaben entsprechen daher eher einer "Querschnittsaufnahme" über eine Stunde.

Zusätzlich muß darauf hingewiesen werden, daß Blutproben erst nach erfolgter Gallegewinnung genommen werden können oder aber auf eine Gallenprobe verzichtet werden muß wenn schon wenige Minuten nach der Karzinogenapplikation Blut entnommen wird (Gruppe 10,13). Der Grund dafür ist nicht nur die Menge (je 1 ml Blut aus der Pfortader und aus der V. cava inferior), sondern vor allem das Leck das nach der Punktion des Gefäßes zurückbleibt, so daß die Tiere die Blutentnahme nicht lange tolerieren können. Dieser Umstand führt dazu, daß während des Zeitraums der Gallegewinnung über DHPN-Konzentrationen im Blut am gleichen Tier keine Aussagen gemacht werden können. Einen Ausweg bietet in Zukunft möglicherweise die Radiomarkierung der applizierten Nitrosamine, mit deren Hilfe auch über kleinere Mengen noch quantitativ-qualitative Aussagen getroffen werden können, evtl. auch ohne jeden invasiven Eingriff am Versuchstier.

Die größten Schwierigkeiten bei den eigenen Untersuchungen bestanden in der schlechten Mischbarkeit des DHPN im Olivenöl. Auch bei LEVITT (1977) findet sich bereits ein Hinweis auf diese Problematik. Nach seinen Beobachtungen entstehen Neoplasmen sehr viel früher wenn das DHPN anstatt

in Olivenöl in Wasser gelöst wird, außerdem bleiben bei der Benutzung von Olivenöl bei subcutaner Applikation des Karzinogens im Unterhautfettgewebe große Taschen mit nicht resorbiertem DHPN liegen. Die Frage, warum trotz dieser offensichtlich bekannten Nachteile des Olivenöls dennoch immer wieder darauf zurückgegriffen wurde, erklärt sich nach unserer Tatsache, daß es sich bei allen bisher zu diesem Thema durchgeführten Untersuchungen um langfristige Versuche handelte bei denen das Gemisch einmal wöchentlich subcutan verabreicht wurde. Zum einen war in diesen Fällen die langsame Resorption des DHPN durchaus gewollt um eine möglichst gleichmäßige Karzinogenabgabe an den Organismus zu gewährleisten, zum anderen machten sich die beschriebenen Konzentrationsunterschiede pro applizierter Dosis bei diesen Langzeitversuchen sicher kaum bemerkbar und konnten daher auch nicht festgestellt werden. Denn wenn das Gemisch über 40 Wochen lang einmal wöchentlich gegeben wird, gleichen sich diese Unterschiede im Mittel aus.

Bei den eigenen Untersuchungen, bei denen schon Minuten bis wenige Stunden nach einer einmaligen Applikation einer DHPN-Dosis Flüssigkeitsproben entnommen wurden, konnten diese Mischungsprobleme zwar erstmals in solcher Deutlichkeit entdeckt werden, erschwerten jedoch die Interpretation der Ergebnisse. Denn gerade die Erkenntnis, daß die Metabolisierung des DHPN sich in Zeiträumen von Minuten bis wenigen Stunden abspielt, setzt eine optimale Verteilung des Karzinogens voraus.

Die Erkenntnisse der Vorversuchsserie führten dazu, daß für die folgenden Versuche besonders sorgfältige DHPN-

Olivenölemulsionen angesetzt wurden und zusätzlich für jede Gruppe eine Referenzemulsion angefertigt wurde. Auf diese Weise war es zumindest möglich, die tatsächlich pro Tier applizierte Menge DHPN zu bestimmen und über die Umrechnung in Prozent der Gesamtmenge auch zu ermöglichen, daß für eine ausreichende Vergleichbarkeit der Ergebnisse gesorgt war.

Dennoch traten, trotz dieser Maßnahme, immer noch erhebliche Konzentrationsunterschiede der Applikationslösungen auf. Unter Berücksichtigung pharmako-kinetischer Aspekte des DHPN, insbesondere der Geschwindigkeit der Metabolisierung beim syrischen Goldhamster, muß davon ausgegangen werden, daß für die vorliegenden Mengenunterschiede des tatsächlich applizierten Karzinogens sicher auch verschieden große Stoffwechselleistungen seitens der Hamster zu gelten haben. Außerdem muß berücksichtigt werden, daß die Tiere bis zur Applikation des DHPN nicht an der Nahrungsaufnahme gehindert wurden, was seinerseits den Stoffwechsel in variabler Weise belastet.

Nur unter Einbeziehung all dieser Kriterien können die erzielten Ergebnisse vorsichtig interpretiert werden.

Bei den Versuchen der Gruppen 14 - 21 wurden nach den Erkenntnissen der Vorversuchsserie nur Zeitabstände bis zu drei Stunden nach Karzinogenapplikation gewählt. Die Applikationsarten subcutan, intragastral und intraperitoneal wurden beibehalten um deren unterschiedlichen Einfluß auf Stoffwechselvorgänge beobachten zu können.

Legt man eine Latenzzeit von 90 Minuten zugrunde, so traten nach subcutaner Applikation (Gruppe 19) in der Gallenflüssigkeit höhere DHPN-Konzentrationen als im Blut auf. Auch nach 150 Minuten und nach 180 Minuten (Gruppe 20 und 21) waren diese Verhältnisse zu beobachten. Gleiches galt für die intraperitoneale DHPN-Gabe (Gruppe 16 und 17). Dieser Befund deutet - wie schon in der Vorversuchsserie orientierend festgestellt wurde - möglicherweise darauf hin, daß zu diesen Zeitpunkten die Konzentrationsmaxima im Blut bereits überschritten sind. Umgekehrte Verhältnisse fanden sich nach intragastraler DHPN-Gabe. Hier waren zu vergleichbaren Zeitpunkten die Konzentrationen des Karzinogens im Blut leicht höher als in der Galle. Dies kann bedeuten, daß die DHPN-Resorption aus dem Magen langsamer verläuft als aus dem Unterhautfettgewebe. Unterstützt wird diese Annahme, wenn man die Konzentrationskinetik nach subcutaner und nach intragastraler Applikation miteinander vergleicht (siehe auch Abb. 9 u. 11). Während nach intragastraler Applikation die DHPN-Konzentration sowohl in der Galle als auch im Blut erst nach 150 Minuten ansteigt und meßbar wird, fällt sie nach subcutaner Applikation nach 150 Minuten bereits wieder ab.

Einen Hinweis auf die kurze Zeitspanne, in der sich die Metabolisierung des DHPN möglicherweise abspielt, geben die Ergebnisse nach intraperitonealer Applikation. Aspiert man dort Gallenflüssigkeit 90 Minuten nach der Karzinogeninjektion, so findet sich eine DHPN-Konzentration die zehnmal höher ist als diejenige, die 30 Minuten später gemessen wird (Gruppe 17 und 18). Ebensolche kurzfri-

stigen Konzentrationsveränderungen finden sich noch an mehreren anderen Punkten der Tabellen 4 - 6. Dabei ist nicht anzunehmen, daß diese Unterschiede auf die in den Referenzproben deutlich gewordenen Konzentrationsdifferenzen zurückzuführen sind, denn Grundlage der Daten in Tabelle 4 - 6 sind die in Prozent der Gesamtmenge umgerechneten tatsächlich applizierten Mengen DHPN, wie sie aus Tabelle 3 hervorgehen.

Neben den konkreten Konzentrationsangaben kann demnach eine sichere Aussage darüber gemacht werden, daß DHPN als Vertreter der Nitrosamine im Organismus des syrischen Goldhamsters sehr schnell metabolisiert wird und sicher zum Teil über die Galle ausgeschieden wird. Genauere Angaben ließen sich unter den vorliegenden Versuchsbedingungen nicht machen. Zumindest konnte die Galle sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht als Träger karzinogener Substanzen bestätigt werden und erhielt damit fundamentelle Bedeutung bei der Genese des Pankreaskopfkarzinoms, insbesondere unter Berücksichtigung eines stattfindenden Gallerefluxes.

Um diese Ergebnisse zu bestätigen und die beschriebenen technischen Schwierigkeiten auszuschalten, sind ergänzende Versuche mit einer größeren Tierzahl mit Wasser als Emulsionsmittel und mit empfindlicheren Nachweismethoden bei kleineren Testmengen (möglicherweise über C₁₄-markierte Nitrosamine) notwendig.

Abschließend sei ein Beitrag von BATES (1975) zur Diskussion gebracht der zur Frage des gehäuften Auftretens von Karzinomen im Kopfteil der Bauchspeicheldrüse eine Hypo-

these aufstellt, die weder den Gallereflux noch die Aufnahme karzinogener Substanzen aus dem Blut zur Grundlage hat. Nach seinen Darstellungen gehen die Zellen im Pankreaskopf auf andere embryologische Zellstämme zurück als der Rest der Drüse. Allein diese embryologischen Unterschiede könnten nach seiner Meinung ausreichen, diesen Teil der Drüse für eine Karzinogenese zu prädestinieren.

Im Zusammenhang mit den eigenen Untersuchungen und den Befunden anderer Autoren wäre hier möglicherweise die Erklärung dafür zu finden, warum unter der Voraussetzung karzinogener Gallenflüssigkeit die Gallengangsepithelien verhältnismäßig wenig karzinogen entarten. Denn bei zutreffender Hypothese von BATES (1975) läge der Grund dafür allein in der erhöhten Empfindlichkeit des Pankreasgangepithels im Kopfbereich der Drüse.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Das pankreasspezifische Karzinogen DHPN (dihydroxypropylnitrosamin) wurde bei weiblichen syrischen Goldhamstern subcutan, intragastral und intraperitoneal in einer Menge von 120 mg/kg Körpergewicht appliziert. Anschließend wurden nach unterschiedlichen Latenzzeiten Blutproben aus der Vena cava inferior und aus der Vena porta, sowie Proben aus der Gallenblase entnommen. Vor der Punktion der Gallenblase wurde der Ductus choledochus zum Aufstau der Gallenflüssigkeit ligiert.

Ziel der Untersuchungen war es, Erkenntnisse über die Resorption und Verteilung des Karzinogens beim syrischen Goldhamster zu gewinnen.

In einer 75 Tiere umfassenden Vorversuchsserie ergaben sich erste orientierende Ergebnisse hinsichtlich meßbarer Konzentrationen des DHPN in den Körperflüssigkeiten des Hamsters. Schon 24 Stunden nach Karzinogenapplikation konnte weder im Blut noch in der Galle das Karzinogen nachgewiesen werden, ebensowenig wie nach 72 Stunden oder nach einem Langzeitversuch, bei dem eine Gruppe von zehn Versuchstieren einmal wöchentlich 120 mg/kg Kg DHPN subcutan bzw. intragastral appliziert bekam. Erste meßbare Konzentrationen ergaben sich in dieser Versuchsserie nach einer Latenzzeit von 80 Minuten in der Galle und nach 10 Minuten im Blut, wobei die Konzentrationen in der Vena cava und in der Vena porta etwa gleichzusetzen waren. Die unterschiedlichen Applikationsformen hatten auf die Qualität der meßbaren DHPN-Konzentrationen keinen Einfluß, wohl aber auf deren Quantität.

Weit streuende oder negative Ergebnisse in der Vorversuchsserie konnten auf eine schlechte Mischbarkeit des Karzinogens im Olivenöl und daraus resultierenden Konzentrationsunterschieden in den Applikationsdosen zurückgeführt werden.

In einer weiteren Versuchsserie, in die 40 Tiere einbezogen wurden, konnten mittels verbesserter Mischungstechnik und Referenzproben der Applikationsdosen deutlich besser korrelierende Ergebnisse erzielt werden. Die Zeitabstände zwischen der Karzinogenapplikation und der Probenentnahme bewegten sich dabei zwischen 30 Minuten und 180 Minuten, die Applikationsarten subcutan, intragastral und intraperitoneal wurden beibehalten.

Nach subcutaner Applikation wurden in der Gallenflüssigkeit höhere DHPN-Konzentrationen als im Blut gemessen, nach intraperitonealer Applikation waren die Relationen genau umgekehrt. Nach intragastraler Applikation wurden ansteigende DHPN-Konzentrationen in der Galle und im Blut nach 150 Minuten gefunden, zu einem Zeitpunkt, bei dem die Konzentrationen nach subcutaner und intraperitonealer Applikation bereits wieder fallend waren.

Die Ergebnisse enthalten deutliche Hinweise auf relativ kurze Zeitspannen in denen sich die Metabolisierung des DHPN im Organismus des syrischen Goldhamsters abspielt. So ist beispielsweise das Karzinogen nach intraperitonealer Applikation aus dem Blut schon weitgehend resorbiert, ehe es hohe Konzentrationen in der Gallenflüssigkeit erreicht, oder es findet sich nach 90 Minuten ein zehnmal

höherer DHPN-Wert im Blut als nach 30 Minuten.

Sicher konnte die Galle sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht als Träger karzinogener Substanzen bestätigt werden und erhielt damit fundamentelle Bedeutung bei der Genese des Pankreaskopfkarzinoms, insbesondere unter Berücksichtigung eines stattfindenden Gallerefluxes.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALTHOFF, J., POUR, P., MALICK, L., WILSON, R.B.:
Pancreatic neoplasms induced in Syrian golden hamsters.
Amer. J. Path. 83 (1976) 517-522
2. BATES, R.: Chemical carcinogenesis and the pancreas.
J. Natl. Cancer Inst. 143 (1975) 145-149
3. DÖRKEN, H.: Epidemiologie und Klinik des Pankreaskrebses.
Der Internist 11 (1970) 122-127
4. DRUCKREY, H., PREUSSMANN, R., IVANKOVIC, S., SCHMÄHL, D.:
Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten.
Zeitschr. f. Krebsforschung 69 (1967) 103-201
5. DRUCKREY, H., IVANKOVIC, S., BÜCHELER, J., PREUSSMANN, R., THOMAS, C.: Erzeugung von Magen- und Pankreaskrebs beim Meerschweinchen durch Methylnitros-harnstoff und -urethan.
Zeitschr. f. Krebsforschung 72 (1968) 167-182
6. FITZGERALD, P.J., FORTNER, J.G., WATSON, R.C., SCHWARTZ, M.K. et al.: The value of diagnostic aids in detecting pancreas cancer.
Cancer 41 (1978) 868-879
7. FORELL, M.M., STAHLHEBER, H., SCHOLZ, F.: Galle als Reiz der Enzymsekretion des Pankreas.
Dtsch. med. Wschr. 90 (1965) 1128-1132

8. FRAUMENI, J.F. jr.: Cancers of the pancreas and biliary tract: epidemiological considerations. Cancer res. 35 (1975) 3437-3446
9. GINGELL, R., WALLCAVE, L., NAGEL, D., KUPPER, R., POUR, P.: Metabolism of the pancreatic carcinogens N-nitroso-bis(2-oxopropyl)amine and N-nitroso-bis(2-hydroxypropyl)amine in the Syrian hamster. J. Natl. Cancer Inst. 57 (1976a) 1175-1178
10. GINGELL, R., WALLCAVE, L., NAGEL, D., KUPPER, R., POUR, P.: Common metabolites of N-nitroso-2,6-dimethylmorpholine and N-nitroso-bis(2-oxopropyl)amine in the Syrian hamster. Cancer letters 2 (1976b) 47-52
11. GINGELL, R., POUR, P., LANGENBACH, R.: Metabolism of the pancreatic carcinogen N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine after oral and i.p.administration to hamsters. AACR Abstracts 155, march 1977
12. GINGELL, R., BRUNK, G., NAGEL, D., POUR, P.: Metabolism of three radiolabeled carcinogenic nitrosamines in hamsters and rats. Cancer res. 39 (1979) 4579-4583
13. HEATH, D.F., DUTTON, A.H.: Demethylation of dimethylnitrosamine in rats and mice. Nature (Lond.) 178 (1956) 644

14. HOLLENDER, L.F., MEYER, Ch.: Operative Behandlung
des Pankreaskarzinoms.
Zbl. Chirurgie 103 (1978) 1256-1263
15. HÜBNER, K.: Pathologisch-anatomische Übersicht der
Pankreaserkrankungen.
Therapiewoche 28 (1978) 6876-6890
16. IHSE, I., LILJA, P., ARNESJÖ, B., BENGMARK, S.:
Total pancreatectomy for cancer.
Ann. Surg. 186 (1977) 675-680
17. IWAMURA, K., UENO, F.: Klinik des Pankreaskarzinoms.
Therapiewoche 28 (1978) 6961-6975
18. KLAPDOR, R., PIETSCH, H., SCHREIBER, H.W.: Diag-
nostik des Pankreaskarzinoms.
Med. Welt 30 (1979) 1217-1223
19. KLÖPPEL, G., RÜCKERT, K., EICHFUSS, H.P., SOSNOWSKI,
J., KLAPDOR, R.: Aktuelle Aspekte des Pankreas-
karzinoms.
Dtsch. med. Wschr. 104 (1979a) 1801
20. KLÖPPEL, G., BOMMER, G., RÜCKERT, K., SEIFERT, G.:
Pankreasgangproliferationen und Pankreaskarzino-
genese: Vergleich menschlicher und tierexperimen-
teller Veränderungen.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 63 (1979b) 387-391

21. KLÖPPEL, G., BOMMER, G., RÜCKERT, K., SEIFERT, G.:
Intraductal proliferations of the pancreas and
their relationship to human and experimental car-
cinogenesis.
Virchows Arch. A., Pathol. Anat. Histol. 387
(1980) 221

22. KOCH, H., BELOHLAVEK, D., SCHAFFNER, O., RÖSCH, W.:
Möglichkeiten und Grenzen der endoskopischen
Pankreasdiagnostik.
Therapiewoche 27 (1977) 4955-4958

23. KONISHI, K., KONDO, H., INUI, S., DENDA, A., IKEDA, T.,
KOJIMA, K.: Carcinogenic effect of N-bis-(2-hydroxy-
propyl)-nitrosamine by oral administration in mice.
Cancer letters 3 (1977) 255-257

24. KRITCHOVSKY, D.: Formal discussion of "Cancers of
the pancreas and biliary tract: epidemiological
considerations".
Cancer res. 35 (1975) 3450-3451

25. KRÜGER, F.W.: Metabolismus von Nitrosaminen in vivo I.
Z. Krebsforsch. 76 (1971) 145-154

26. KRÜGER, F.W.: Metabolism of nitrosamines in vivo II.
Z. Krebsforsch. 79 (1973) 90-93

27. KÜMMERLE, F., RÜCKERT, K.: Pankreaskarzinom: früh-
zeitige Radikaloperation bessert Überlebenschance.
Deutsches Ärzteblatt 43 (1977a) 2579-2582

28. KÜMMERLE, F.: Diagnostik und Therapie entzündlicher und tumoröser Pankreaserkrankungen.
Therapiewoche 27 (1977b) 4927

29. KÜMMERLE, F.: Die kurative Behandlung des Pankreas-
karzinoms.
Therapiewoche 27 (1977c) 5010-5016

30. KÜMMERLE, F., MANGOLD, G., RÜCKERT, K.: Chirurgie
des Pankreas.
Der Internist 20 (1979) 399-406

31. LEVITT, M., HARRIS, C., SQUIRE, R., SPRINGER, S.,
WENK, M.: Introduction of pancreatic neoplasms
in Syrian golden hamsters by 2,2-dioxopropyl-N-
propyl-nitrosamine.
Cancer letters 1 (1975) 3-6

32. LEVITT, M., HARRIS, C., SQUIRE, R., SPRINGER, S.,
WENK, M.: Experimental pancreatic carcinogenesis.
Am. J. Pathol. 88 (1977) 5-28

33. LOWENFELS, A.B.: Does bile promote extra-colonic
cancer?
The Lancet 29 (1978) 239-241

34. MOHR, U., REZNIK, G., EMMINGER, E., LIJINSKY, W.:
Induction of pancreatic duct carcinomas in the
Syrian hamster with 2,6-dimethylnitrosomorpholine.
J. Natl. Cancer Inst. 58 (1977) 429-432

35. PETERS, H., KEIMES, A.M.: Die Cholezystektomie als prädisponierender Faktor in der Genese des kolorektalen Karzinoms?
Dtsch. med. Wschr. 45 (1979) 1581-1583
36. POUR, P., KRÜGER, F.W., CARDESA, A., ALTHOFF, J., MOHR, U.: Carcinogenic effect of di-n-propylnitrosamine in Syrian golden hamsters.
J. Natl. Cancer Inst. 51 (1973) 1019-1027
37. POUR, P., KRÜGER, F.W., ALTHOFF, J., CARDESA, A., MOHR, U.: Cancer of the pancreas induced in the Syrian golden hamster.
Am. J. Pathol. 76 (1974a) 349-358
38. POUR, P., KRÜGER, F.W., ALTHOFF, J., CARDESA, A., MOHR, U.: Effect of β -oxidized nitrosamines on Syrian golden hamsters. I. 2-hydroxypropyl-n-propylnitrosamine.
J. Natl. Cancer Inst. 12 (1974b) 1245-1249
39. POUR, P., MOHR, U., CARDESA, A., ALTHOFF, J., KRÜGER, F.W.: Pancreatic neoplasms in an animal model: morphological, biological and comparative studies.
Cancer 36 (1975a) 379-389
40. POUR, P., KRÜGER, F.W., ALTHOFF, J., CARDESA, A., MOHR, U.: A new approach for induction of pancreatic neoplasms.
Cancer res. 35 (1975b) 2259-2268

41. POUR, P., KRÜGER, F.W., ALTHOFF, J., CARDESA, A.,
MOHR, U.: Effect of β -oxidized nitrosamines on
Syrian golden hamsters: III. 2,2-dihydroxy-di-
n-propylnitrosamine.
J. Natl. Cancer Inst. 54 (1975c) 141-146
42. POUR, P., ALTHOFF, J.: Induction of pancreatic neo-
plasms by 2,2-dioxopropyl-n-propylnitrosamine.
Cancer letters 1 (1975d) 3-6
43. POUR, P., ALTHOFF, J., GINGELL, R., KUPPER, R.:
A further pancreatic carcinogen in Syrian golden
hamsters: N-nitroso-bis(2-acetoxypentyl)amine.
Cancer letters 1 (1976a) 197-202
44. POUR, P., ALTHOFF, J., GINGELL, R., KUPPER, R.,
KRÜGER, F.W., MOHR, U.: N-nitroso-bis(2-acetoxy-
propyl)amine as a further pancreatic carcinogen
in Syrian golden hamsters.
Cancer res. 36 (1976b) 2877-2884
45. POUR, P., ALTHOFF, J., KRÜGER, F.W.: A potent pancreatic
carcinogen in Syrian golden hamsters: N-nitroso-
bis-(2-oxopropyl)amine.
J. Natl. Cancer Inst. 58 (1977) 1449-1453
46. POUR, P., SALMASI, S.Z., RUNGE, R.G.: Selective in-
duction of pancreatic ductular tumors by single
doses of n-nitroso-bis(2-oxopropyl)amine in Syrian
golden hamsters.
Cancer letters 4 (1978a) 317-323

47. POUR, P., DONNELLY, Th.: Effect of cholecystoduodenostomy and choledochostomy in pancreatic carcinogenesis.
Cancer res. 38 (1978b) 2048
48. REBER, H.A., JOHNSON, F.E., MONTGOMERY, C., CARL, W.R.:
Pancreatic secretion in hamsters with pancreatic cancer.
Surgery 82 (1977) 34-41
49. REYES, H., KERN, F.: Effect of pregnancy on bile flow and biliary lipids in the hamster.
Gastroenterology 76 (1978) 144-149
50. RÜCKERT, K., KÜMMERLE, F.: Totale Duodenopankreatektomie als Regeloperation beim Pankreaskarzinom.
Chirurg 49 (1978a) 162-166
51. RÜCKERT, K., GAMSTÄTTER, G., KLÖPPEL, G., FRAENKEL, M., PRACHT, B.: Zu Lokalisation des experimentell erzeugten Pankreaskarzinoms beim syrischen Goldhamster.
Vortrag Nr. F 41, 19. Tg. Österr. Ges. für Chirurgie 1978b
52. RÜCKERT, K., KLINK, E., KLÖPPEL, G.: Experimentell induziertes Pankreaskarzinom nach Choledochojejunostomie.
Langenbecks Arch. Chir. 348 (1979) 261-268

53. RÜCKERT, K., PRACHT, B., KLÖPPEL, G.: Experimentell induziertes Pankreaskarzinom nach partieller Pankreasgangligatur.
Cancer res. (im Druck)
54. SANDER, J.: Untersuchungen über die Entstehung cancerogener Nitrosoverbindungen im Magen von Versuchstieren und ihre Bedeutung für den Menschen.
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 21 (1971) 1707-1713
55. SCHWARZE, E., MICHEL, G.: Anatomie der Eingeweide des Syr. Goldhamsters (*Mesocricetus auratus* W.)
Wissenschaftl. Zeitschr. der Karl-Marx-Univ. Leipzig 9. Jg. (1959/60) 102-110
56. SPOHN, K., FUX, D.H., HAHN, K., KIENZLE, H.F.:
Palliativoperationen beim fortgeschrittenen Pankreaskarzinom.
Therapiewoche 27 (1977) 5001-5008
57. TAKAHASHI, M., POUR, P., ALTHOFF, J., DONNELLY, T.:
Sequential alteration of the pancreas during carcinogenesis in Syrian golden hamsters by N-nitrosobis(2-oxopropyl)amin.
Cancer res. 37 (1977a) 4602-4607
58. TAKAHASHI, M., POUR, P., ALTHOFF, J., DONNELLY, T.:
The pancreas of the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*). An anatomical study.
Laboratory animal science Vol. 27, No. 3 (1977b)
336-342

59. TAKAHASHI, M., POUR, P.: The results of pancreatography during pancreatic carcinogenesis.
Am. J. Pathol. 91 (1978) 57-70
60. WYNDER, E.L., MABUCHI, K., MARUCHI, N., FORTNER, J.G.:
Epidemiology of cancer of the pancreas.
J. Natl. Cancer Inst. 50 (1973) 645-667
61. WYNDER, E.L.: An epidemiological evaluation of the
causes of cancer of the pancreas.
Cancer res. 35 (1975) 2228-2233

LEBENS LAUF

Ich wurde am 24. August 1953 als Sohn des Speditionskaufmannes Hans Günther Oppermann und seiner Frau Antje Oppermann, geb. Gutenkunst, geboren. In Hildesheim besuchte ich von 1959 bis 1963 die Grundschule und von 1963 bis 1972 das Scharnhorst-Gymnasium, an dem ich im Mai 1972 die Prüfung zum Abitur ablegte.

Nach einem Krankenpflegepraktikum vom Juni 1972 bis September 1972 absolvierte ich von Oktober 1972 bis Dezember 1973 meinen Dienst bei der Bundeswehr als Sanitäter.

Zur Überbrückung der Zeit bis zur Aufnahme des Studiums der Medizin arbeitete ich in den folgenden Jahren in der unfallchirurgischen Praxis von Herrn Dr. med. Hans Krüger in Celle bis ich 1975 im November die Zulassung zum Medizinstudium an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg erhielt.

Nach zwei Semestern in Freiburg wechselte ich an die Johannes Gutenberg-Universität in Mainz und legte dort am 6.4.1978 die Prüfung zum Physikum ab. Es folgten die Prüfungen zum ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung am 3.4.1979 und zum zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung am 7.4.1981. Während des SS 81 nahm ich am Studienbetrieb nicht teil, sondern widmete mich ganz der Fertigstellung meiner Dissertation, ehe im Oktober 1981 der Beginn des letzten Studienabschnittes geplant ist.

Ich danke Herrn Priv.-Doz. Dr. Klaus Rückert für die freundliche Bereitstellung des Themas sowie für seine stets wertvolle Unterstützung meiner Arbeit.

Außerdem gilt mein Dank Frau Dr. Barbara Bertram vom Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg für die Synthese und Bereitstellung des Karzinogens DHPN sowie für die Analyse der eingesandten Blut- und Gallenproben.

